

# ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

FONDÉES SOUS LE PATRONAGE DE **M. PASTEUR**

PAR

**E. DUCLAUX**

---

#### COMITÉ DE RÉDACTION

**D<sup>r</sup> CALMETTE**, directeur de l'Institut Pasteur de Lille ;  
**D<sup>r</sup> CHANTEMESSE**, professeur à la Faculté de Médecine ;  
**D<sup>r</sup> LAVERAN**, membre de l'Institut de France ;  
**D<sup>r</sup> L. MARTIN**, directeur du service de Sérothérapie ;  
**P<sup>r</sup> METCHNIKOFF**, sous-directeur de l'Institut Pasteur ;  
**D<sup>r</sup> ROUX**, directeur de l'Institut Pasteur ;  
**D<sup>r</sup> VAILLARD**, membre de l'Académie de Médecine.

---

DR  
I  
A475  
v.28  
1914  
PER

TOME VINGT-HUITIÈME

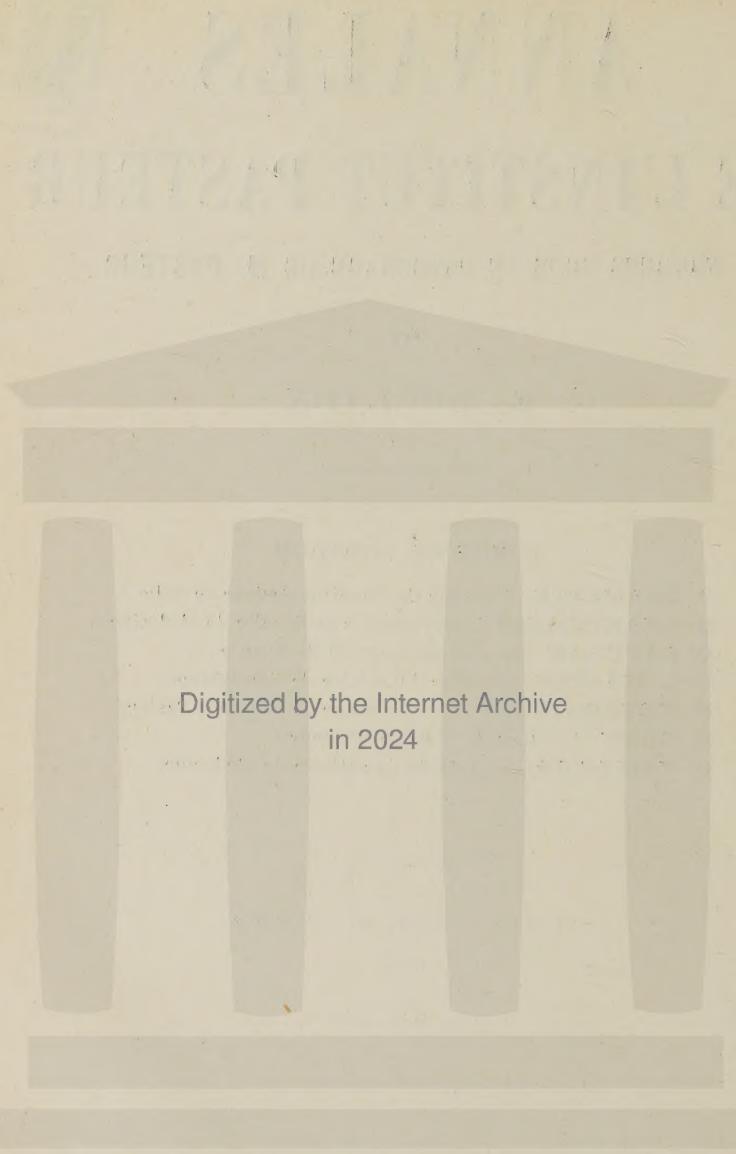
1914

AVEC 20 PLANCHES

---

PARIS

MASSON ET C<sup>ie</sup>, ÉDITEURS  
LIBRAIRES DE L'ACADEMIE DE MÉDECINE  
120, Boulevard Saint-Germain (6<sup>e</sup>).



Digitized by the Internet Archive  
in 2024

composés, comme la lécithine. Là encore, l'inconstance des résultats fut manifeste avec plusieurs échantillons d'un produit dont la fabrication pouvait avoir modifié quelques-unes des propriétés; aussi, dans les autres expériences, avons-nous opéré avec le vitellus (1) de l'œuf de poule, qui nous a donné des résultats constants et particulièrement intéressants. (Tableau II.)

TABLEAU II.

**Action du vitellus de l'œuf de poule  
sur des doses subtétanisantes de toxine.**

MÉLANGES INJECTÉS 20 heures après leur préparation.	JOURS							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Souris 1. TT. 0,005 c.c. . . . .	-	-	≡	≡	+	"	"	"
Souris 2. TT. 0,0001 c.c. . . . .	0	0	0	0	0	0	0	0
Souris 3. TT. 0,000001 c.c. + VIII gouttes de vitellus.	0	≡	≡	≡	≡	≡	+	"
Souris 4. TT. 0,0000001 c.c. + VIII gouttes de vitellus . . . . .	0	≡	≡	≡	≡	≡	+	"
Souris 5. TT. 0,00000001 c.c. + VIII gouttes de vitellus . . . . .	0	-	-	≡	≡	≡	≡	+
Souris 6. TT. 0,000000001 c.c. + VIII gouttes de vitellus . . . . .	0	0	0	-	≡	≡	≡	≡
Souris 7. Vitellus X gouttes . . . . .	0	0	0	0	0	0	0	0

L'action de ce vitellus sur la tétanine s'est montrée d'une puissance très grande : des quantités de toxine cent mille fois inférieures à la dose qui par elle seule ne donne pas la moindre roideur de la patte inoculée, provoquent un tétanos local tout à fait net quand elles ont été mélangées avec une minime quantité de jaune d'œuf; un cent-millionième de centimètre cube de toxine additionné de cette substance suffit encore pour donner à une souris de 15 grammes un tétanos mortel en huit jours, alors que le témoin n'éprouve aucun trouble apparent avec un dix-millième de centimètre cube de toxine, c'est-à-dire avec une dose dix mille fois plus forte.

(1) Le jaune d'œuf était émulsionné dans son volume d'eau physiologique.

Dans le contenu de l'œuf, le blanc n'a aucun pouvoir favorisant sur la toxine; seul le vitellus se montre actif.

Si l'on se demande auquel de ses composants il doit cette propriété, il semble qu'on puisse l'attribuer surtout à ses combinaisons phosphorées organiques, c'est-à-dire aux lécithines. En effet, au moyen de solutions salines étendues, on ne parvient pas à extraire dans le jaune d'œuf, de substance activante pour la toxine, ce qui élimine l'ovovitelline; de plus le chauffage du vitellus à 56 degrés pendant vingt minutes n'altère pas sensiblement son action sur la toxine. Si, d'autre part, on se rappelle le pouvoir favorisant que nous avons déjà constaté avec certaines lécithines du commerce, ainsi que l'exemple des venins, on ne peut s'empêcher d'attribuer à une lécithine ou à l'une de ses combinaisons une part importante dans le phénomène que nous étudions et dont l'intensité semble due à l'état naturel sous lequel se trouve la substance activante (1).

Mais, si c'est une lécithine qui intervient pour mettre en valeur des quantités aussi faibles de toxine tétanique, il n'en résulte pas une combinaison analogue aux lécithides. Il se fait cependant une fixation du poison sur la substance activante, cela plus rapidement à 37 degrés qu'à la température de la chambre et la filtration des mélanges vitellus-toxine rend un liquide dépouillé des propriétés tétanisantes qu'ils présentaient avant cette opération.

L'activation de la toxine tétanique par le vitellus de l'œuf de poule réussit surtout chez les espèces très sensibles à ce poison, comme la souris, le cobaye. Chez le lapin, qui jouit d'un état d'immunité naturelle assez marqué vis-à-vis de la tétanotoxine, on ne parvient pas à rendre actives des doses du poison très inférieures à celles qui lui donnent un tétanos par injection intramusculaire. (Tableau III.) D'ailleurs, chez la souris, une injection de vitellus n'a pas pour effet d'activer une dose subtétanisante de toxine inoculée séparément et à distance du premier.

Nous ajouterons que le pouvoir activant du jaune d'œuf sur la tétanine se manifeste uniquement en mettant en valeur des

(1) Une préparation comme l'*huile d'œufs*, obtenue en traitant les jaunes durcis par l'éther, se montre tout à fait inactive vis-à-vis de doses subtétanisantes de toxine, malgré la lécithine que contient cette préparation du Codex.

# ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

## ACTIVATION DE LA TOXINE TÉTANIQUE

par A. MARIE.

Nous avons montré (1) qu'un produit normal de l'organisme, l'adrénaline, exerce *in vitro* une action puissante sur la toxine tétanique dont plusieurs millions de doses mortelles peuvent être neutralisées par un gramme de cet alcaloïde. En outre, nous avons vu que si on remplace celui-ci par de la poudre de surrénale, le nouveau mélange conserve toutes ses propriétés tétanisantes, même avec des quantités de glande desséchée représentant une dose notable d'adrénaline. Bien plus, il suffit d'ajouter cette poudre de capsule ou bien d'autres préparations de l'organe au mélange toxine-adrénaline pour empêcher l'action antitétanique d'un échantillon de suprarénine, naturelle ou synthétique.

Ce fait que la tétanotoxine n'est plus neutralisée par l'alcaloïde en présence des autres substances contenues dans la glande surrénale n'est pas spécifique : des extraits de tissu hépatique, des filtrats de matière nerveuse, enfin des corps définis tels que la lécithine présentent un pouvoir analogue et il est possible qu'il soit dû en partie à un composé comme la lécithine, si répandu dans les éléments cellulaires des glandes surrénales en particulier, ou bien à l'une de ses combinaisons.

En tout cas, c'est là un phénomène intéressant et que l'on pourrait interpréter dans le sens d'une action favorisante exercée sur la toxine tétanique par certaines substances de l'organisme. Cette hypothèse nous a fait rechercher ce qui se passe-

(1) *Ces Annales*, t. XXVII, p. 294.

rait si l'on faisait agir différents composés organiques sur des doses de tétanotoxine qui, administrées seules en injection sous-cutanée à des mammifères, ne provoquent plus chez eux la moindre trace de tétanos local.

Nos premiers essais ont porté sur l'action de diverses préparations de glandes surrénales, de lécithine et de cholestérol. Voici quelques-unes de ces expériences. (Tableau I.)

TABLEAU I.

**Action de quelques préparations  
sur des doses subtétanisantes de toxine.**

MÉLANGES INJECTÉS après une exposition de 20 heures à 37 degrés.	JOURS						
	1	2	3	4	5	6	7
Souris 1. TT. 0,065 c.c. + V gouttes de glycérine pure.	—	=	=	≡	+	”	”
Souris 2. TT. 0,0001 c.c. + V gouttes de glycérine . .	0	0	0	0	0	0	0
Souris 3. TT. 0,0001 c.c. + V gouttes de glycérolé de surrénale . . . . .	—	=	≡	≡	≡	≡	≡
Souris 4. TT. 0,00001 c.c. + V gouttes de glycérine.	0	0	0	0	0	0	0
Souris 5. TT. 0,00001 c.c. + V gouttes de glycérolé de surrénale . . . . .	—	=	≡	≡	≡	≡	≡
Souris 6. TT. 0,000001 c.c. additionné de traces d'une émulsion de lécithine . . . . .	—	=	≡	≡	≡	≡	+

Ainsi, il résulte de cette première série d'essais que, dans certains cas, des préparations de glande surrénale, de lécithine, ont paru se comporter *in vitro* comme des substances favorisant l'action tétanigène de la toxine, puisqu'une quantité de ce poison cinq mille fois plus faible que la dose mortelle a, par suite de son mélange avec elles, provoqué des signes de tétanos intense chez la souris. L'action de la glande surrénale était particulièrement suggestive, car malgré sa teneur enadrénaline, des doses aussi minimes de toxine se trouvaient en quelque sorte mises en valeur par d'autres substances contenues dans la surrénale.

Toutefois c'est l'impossibilité de les séparer de l'adrénaline sans les altérer elles-mêmes qui nous a fait essayer d'autres

TABLEAU III.

## Doses subtétanisantes de toxine.

MÉLANGES INJECTÉS 20 heures après leur préparation.	JOURS							
	1	3	4	5	6	7	8	
Souris 1. TT. 0,0000001 c. c. + VIII gouttes blanc d'oeuf.	0	0	0	0	0	0	0	0
Souris 2. TT. 0,00000001 c. c. + VIII gouttes jaune d'oeuf.	0	0	-	=	=	=	=	=
Souris 3. TT. 0,00000001 c. c. + VIII gouttes jaune d'oeuf préalablement chauffé à 56 degrés pendant vingt minutes.	0	0	-	=	=	=	=	=
Souris 4. TT. 0,00000001 c. c. + XX gouttes huile d'oeufs.	0	0	0	0	0	0	0	0
Souris 5. TT. 0,0000001 c. c. + VIII gouttes jaune d'oeuf.	0	0	-	=	=	=	=	+
Souris 6. TT. 0,0000001 c. c. dans une patte, et VIII gouttes jaune d'oeuf dans l'autre.	0	0	0	0	0	0	0	0
Lapin 30 (4.580 grammes). TT. 0,001 c. c. + VIII gouttes jaune d'oeuf	0	0	0	0	0	0	0	0

doses inactives par elles seules, non en diminuant la période d'incubation ou en changeant l'évolution de l'intoxication tétanique. Il suffit, pour s'en assurer, d'injecter à un cobaye le mélange vitellus-toxine directement dans le cerveau : le même espace de temps s'écoulera avant l'apparition des premiers signes du télanos cérébral que chez l'animal témoin.

On n'observe pas non plus de changement dans l'évolution de la maladie, suivant qu'une dose *forte* de toxine tétanique a été injectée, mélangée ou non avec le vitellus d'oeuf.

Les faits que nous venons d'étudier montrent que la quantité de toxine tétanique agissant sur le neurone doit être extrêmement petite, la majeure partie étant neutralisée dans l'organisme, peut-être par l'adrénaline (1), au niveau des capsules surrénales. De plus, ces faits autorisent à penser que des composés lécithiniques ne sont pas étrangers au mécanisme de l'action du poison sur la cellule nerveuse.

29 octobre 1913.

(1) Ces *Annales*, t. XXVII, p. 294.

**ACTION DES ABCÈS DE FIXATION  
SUR LA TRYPANOSOMIASE EXPÉRIMENTALE  
DU COBAYE  
ET SUR SON TRAITEMENT PAR L'ATOXYL**

par A. CIUCA (de Bucarest).

(Travail du laboratoire de M. le professeur F. Mesnil.)

Les abcès de fixations produits par les substances chimiques, et spécialement par l'essence de térébenthine, sont employés depuis longtemps dans le traitement de diverses maladies infectieuses, dans le but d'aider l'action d'autres substances médicamenteuses ou d'obtenir par celles-ci une amélioration et quelquefois une guérison complète de ces maladies.

Ce dernier effet a été souvent obtenu dans les maladies en imminence de suppuration.

« En ce qui concerne les maladies à protozoaires, l'action améliorante de ces abcès a été remarquée d'abord dans des cas de malaria, chez des individus ayant des abcès à la suite des injections sous-cutanées de sulfate de quinine. » (J. Carles) (1). On a constaté plus tard des effets semblables dans la piroplasmose canine.

Depuis ces premières observations, les abcès térébenthinés ont été utilisés par Memmo, Adani et Martaglio (2) dans le traitement de la piroplasmose bovine.

Le Dr L. Martin (3) a remarqué, le premier, une amélioration considérable de la maladie du sommeil chez un homme de

(1) *Les abcès de fixation dans les maladies infectieuses et les intoxications*, p. 70, 1913. J.-B. Baillièvre et fils.

(2) *Annal. d'Ig. Experimenti*, 1903, p. 146 (Laboratoire séro-vaccinogène d'Erythrée).

(3) *Les troubles cérébraux de la maladie du sommeil, leur traitement*. *Bulletin médical*, p. 405, 10 mai 1911.

race blanche à la suite d'un abcès provoqué accidentellement par une injection sous-cutanée.

Plus tard, le même auteur eut des résultats inattendus dans un autre cas très grave, avec phénomènes cérébraux, en associant le traitement par l'atoxyl (à fortes doses), avec un abcès de fixation provoqué par l'essence de térébenthine.

La question n'étant pas étudiée au point de vue expérimental et étant donné, d'autre part, l'importance pratique de ces recherches, nous nous sommes décidés, à la suite des conseils de M. le professeur Mesnil, à entreprendre une série d'expériences dans cette direction.

Nous avions à répondre à ces deux questions :

1<sup>o</sup> L'essence de térébenthine, par l'abcès de fixation qu'elle provoque, peut-elle avoir une action antitrypanosomique et par conséquent être employée avec succès dans le traitement de la trypanosomiase expérimentale chez le cobaye?

2<sup>o</sup> L'association du même abcès (provoqué toujours par la même substance) avec le traitement par l'atoxyl possède-t-elle un pouvoir curatif, dans la même trypanosomiase et chez le même animal?

Nous avons choisi comme animal d'expérience le cobaye infecté avec le trypanosome du Surra ou avec celui de l'Ouganda (variété de Nagana).

Mais pour mieux suivre l'action de ces deux substances sur les trypanosomes *in vivo*, il fallait obtenir chez le cobaye une trypanosomiase très régulière comme évolution, avec beaucoup de trypanosomes dans le sang pendant la durée de la maladie et qui ne pourrait être guérie par l'atoxyl seul.

Ces conditions étaient réalisées chez les cobayes infectés avec le trypanosome de l'Ouganda. Les parasites, une fois apparus dans le sang, se maintenaient jusqu'à la mort en se multipliant progressivement; de plus, d'après les recherches de MM. Laveran et Thiroux (1), cette trypanosomiase ou une voisine est inguérissable par l'atoxyl seul.

La trypanosomiase produite par le Surra étant très irrégulière comme évolution, nous l'avons abandonnée.

(1) Recherches sur le traitement des trypanosomiases. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XXII, p. 97, 1908.

**TECHNIQUE**

Les trypanosomes employés sont depuis longtemps entretenus au laboratoire par des passages chez les souris.

Les passages par les cobayes n'exagèrent pas la virulence ni pour cette espèce, ni pour la souris.

Nous injections nos animaux par la voie péritonéale et ensuite on leur examinait journellement le sang. Dans les cas douteux, on notait les résultats après un examen de plusieurs préparations.

L'essence de térébenthine était employée telle qu'elle se trouve dans le commerce.

Nous provoquions la formation des abcès en injectant la térébenthine sous la peau de la fesse du côté externe et le plus haut possible pour éviter la gangrène de l'extrémité du pied, la diffusion du pus pendant la formation de l'abcès, et l'infection de celui-ci après l'ouverture.

Les cobayes injectés avec de la térébenthine sont extrêmement agités pendant une demi-heure. Après vingt-quatre heures, la région est chaude, très sensible et l'inflammation est assez forte; elle est au maximum à la soixante-douzième heure.

L'abcès se forme au bout de quatre ou cinq jours et il n'est pas toujours nécessaire de l'ouvrir.

Le pus est épais, d'une coloration blanc sale et il a une odeur forte de térébenthine, même quand on ouvre les abcès dix jours après l'injection.

Un abcès bien soigné est guéri en dix jours. D'ailleurs, on ne peut pas les entretenir longtemps parce qu'ils provoquent une forte cachexie des cobayes. Parmi les cobayes, il y en a qui supportent bien ces abcès, d'autres qui ne les supportent pas et d'autres chez lesquels on ne peut obtenir aucune inflammation locale.

La quantité d'essence de térébenthine injectée variait entre 1/2 et 1 cent. cube.

La solution d'atoxyl était faite quelques minutes avant l'injection au 100°, dans de l'eau distillée stérilisée.

On injecte l'atoxyl sous la peau et à la dose de 1 1/2-

2 cent. cubes; donc, les animaux reçoivent 0,015-0,020 gr. d'atoxyl.

L'efficacité thérapeutique de cette méthode était vérifiée par l'examen du sang avant et après les injections d'atoxyl et d'essence de térébenthine.

La disparition des trypanosomes de la circulation pendant le traitement était souvent contrôlée par l'inoculation à des souris neuves du sang des animaux soumis au traitement.

### EXPÉRIENCES

Nos expériences ont porté sur 42 cobayes infectés avec le trypanosome de l'Ouganda et sur 10 cobayes infectés avec le trypanosome du Surra.

Sur les 42 premiers cobayes, 11 ont servi de témoins, les 31 autres ont été traités soit uniquement par l'essence de térébenthine, soit par l'association de cette substance et de l'atoxyl,

Sur les 10 derniers, 4 ont servi de témoins et les 6 autres ont été traités seulement par la térébenthine.

Chez les 11 témoins inoculés avec le trypanosome de l'Ouganda, la durée de la maladie a varié entre 11 et 56 jours, la moyenne étant de 30 jours. Les trypanosomes apparaissent dans le sang entre 3 et 8 jours.

Très rares au commencement, ils se multiplient progressivement jusqu'à la mort des animaux, qui présentent vers le 12<sup>e</sup>-14<sup>e</sup> jour des quantités considérables de parasites dans le sang. Il n'y a pas de vraie crise trypanolytique et même la diminution du nombre des trypanosomes est rare.

Chez les témoins inoculés avec le Surra, la durée de la maladie a varié entre 17 et 41 jours. Les trypanosomes apparaissent dans le sang du 5<sup>e</sup> au 9<sup>e</sup> jour après l'inoculation; ils se maintiennent jusqu'à la mort, présentant plusieurs périodes de diminution allant jusqu'à la disparition complète.

Chez les cobayes Surra, les trypanosomes ne sont jamais aussi nombreux que chez les cobayes Ouganda.

Les témoins ont toujours été choisis parmi les cobayes les plus forts de la série.

Les 37 autres cobayes soumis au traitement ont été groupés en deux catégories.

## CATÉGORIE A.

*Cobayes traités seulement par l'essence de térébenthine.*

Pour cette catégorie, nous avons deux séries d'expériences et deux trypanosomiases différentes.

*Première série.* — Les cobayes ont reçu une ou plusieurs injections de térébenthine. La première injection était toujours faite en même temps que le trypanosome pour voir d'abord l'influence de l'abcès sur la période d'incubation de la maladie, et ensuite son rôle curatif.

Voici les observations des cobayes injectés avec le *trypanosome d'Ouganda*.

*Cobaye n° 1, 420 grammes, infecté le 1<sup>er</sup> juin et injecté en même temps avec 1 cent. cube de térébenthine.* Le 4 juin, il avait déjà un gros abcès. Les trypan. ont apparu dans le sang le 14 juin (après 14 jours), et 5 jours après, les parasites étant assez nombreux, on fait la deuxième injection d'essence de térébenthine (1 cent. cube). Vingt-quatre heures après, les trypan. deviennent plus rares; le 11 juillet, ils recommencent à augmenter jusqu'à la mort, survenue le 25 juillet (44 jours). L'évolution totale de la maladie fut de 55 jours. *Autopsie*: Péritonite purulente.

*Cobaye n° 2, 400 grammes, infecté le 8 juillet et injecté simultanément avec 1 cent. cube de térébenthine.* Les 18 et 19 juillet (8 jours après), l'examen du sang montre de rares trypan. L'abcès est bien formé. Le 21 juillet, les trypan. disparaissent du sang circulant; le 28 juillet, ils réapparaissent pour augmenter progressivement jusqu'à la mort, survenue le 5 août. L'évolution complète de la maladie fut de 26 jours. A l'autopsie, on trouve une congestion intense de tous les organes. Hypertrophie de la rate.

*Cobaye n° 3, 480 grammes, infecté le 25 juillet et injecté en même temps avec 1 cent. cube de térébenthine.* Le 5 août, les trypan. apparaissent dans le sang en très petit nombre. Le 7 août, il succombe. *Autopsie*: Hémorragie intrapéritonéale déterminée par la rupture du foie.

*Cobaye n° 4, 580 grammes, infecté le 25 juillet et injecté avec 1 cent. cube de térébenthine le même jour.* Les 4 et 5 août, les parasites sont très rares; deux jours après, ils disparaissent. Ils réapparaissent le 11 août en petit nombre. Le lendemain, on fait une seconde injection de térébenthine. Pas de réaction locale. Le 14 août, mort. Evolution de la maladie, 20 jours. *Autopsie*: Pleurésie avec adhérences pulmonaires. Congestion du poumon.

On répète ces expériences avec des cobayes inoculés avec le *trypanosome du Surra*.

*Cobaye n° 5, 525 grammes, infecté le 1<sup>er</sup> juin et injecté avec 1 cent. cube d'essence de térébenthine.* L'abcès se forme quatre jours après. *Le 17 juin*, les trypan. apparaissent dans le sang et ils s'y maintiennent en nombre variable jusqu'à la mort, survenue le 28 juillet. Evolution de la maladie 56 jours. *Autopsie*: Congestion des organes. Hypertrophie de la rate.

## ACTION DES ABCÈS DE FIXATION SUR LA TRYPANOSOMIASE 41

*Cobaye n° 6*, 430 grammes, infecté le 1<sup>er</sup> juin et injecté simultanément avec 1 cent. cube de térébenthine. Cinq jours après, il avait un énorme abcès local. Le 11 juin, on le trouve mort. Pendant ces 10 jours, l'examen du sang a toujours été négatif. *Autopsie* : Congestion intense des organes.

*Cobaye n° 7*, 475 grammes, infecté et injecté en même temps avec 1 cent. cube de térébenthine le 8 juillet. 10 jours après, les trypan. apparaissent. Le 25, ils sont très nombreux; on pratique la deuxième injection de térébenthine (1 cent. cube). Le 30 juillet, à l'examen du sang, on n'observe plus de parasites. Le 1<sup>er</sup> août, ils réapparaissent et se multiplient jusqu'au 11 août. On pratique une troisième injection de térébenthine (1 cent. cube). Tout de suite après, et durant 5 jours encore, l'examen du sang reste négatif. Après cet intervalle, les parasites font de rares apparitions. Le cobaye maigrit de plus en plus à cause de ses abcès et, le 23 septembre, il est trouvé mort. Evolution de la maladie, 76 jours. *Autopsie* : Les organes sont très pâles. Phlegmon diffus de la fesse gauche.

*Deuxième série.* — Les cobayes en pleine évolution de la maladie reçoivent une seule injection de térébenthine. Le but de ces expériences était de voir le rôle exclusivement curatif des abcès de fixation.

Les cobayes sont infectés avec le *trypanosome de l'Ouganda*.

*N° 8*, 480 grammes, infecté le 1<sup>er</sup> juin. Les trypan. apparaissent 4 jours après. Le 19 juin, l'infection est au maximum; on pratique l'injection de térébenthine. Quatre jours après, ils diminuent considérablement pour augmenter de nouveau les jours suivants jusqu'à la mort, survenue le 7 juillet. Evolution de la maladie, 36 jours. *Autopsie* : Congestion viscérale.

*N° 9*, 450 grammes, infecté le 8 juillet. L'examen du sang est positif après 7 jours et, au bout de 17 jours, les parasites sont innombrables. On pratique à ce moment l'injection de 1 cent. cube de térébenthine. Les parasites commencent à diminuer le troisième jour après l'injection de térébenthine, sans toutefois disparaître complètement. L'animal succombe le 5 août. Evolution de la maladie, 28 jours. A l'autopsie, congestion intense de tous les organes.

*N° 10*, 290 grammes, infecté le 15 septembre; 6 jours après, apparition des parasites dans le sang et, le 14 octobre, ils sont en quantité énorme. On pratique le lendemain l'injection de térébenthine (1 cent. cube). Le nombre des trypanosomes diminue même après 24 heures. Les 4 jours suivants, les trypanosomes ont presque disparu. A partir du 20 octobre, ils commencent à augmenter jusqu'à la mort, survenue le 3 novembre. Durée de la maladie, 53 jours. *Autopsie* : Congestion pulmonaire intense. Rate hypertrophiée.

On fait les mêmes expériences avec des cobayes infectés par les *trypanosomes du Surra*.

*N° 11*, 500 grammes, infecté le 8 juillet; 4 jours après, l'examen du sang est positif; les parasites sont au maximum le 25 juillet. A cette date, il reçoit une injection de 1 cent. cube de térébenthine, sans qu'il s'ensuive

aucune réaction locale ou générale. On le trouve mort le 15 août. Evolution de la maladie, 38 jours. *Autopsie* : Congestion intense et hypertrophie de la rate et des capsules surrenales.

N° 42, 400 grammes, infecté le 25 juillet, présente des parasites après 3 jours; ils deviennent assez nombreux après 15 jours. Le 9 août, il reçoit une injection de téribenthine (1 cent. cube). Les parasites disparaissent entièrement pendant les 5 premiers jours qui suivent l'injection; ils réapparaissent de temps en temps et en très petit nombre jusqu'à la mort, survenue le 26 septembre. Evolution de la maladie, 63 jours. *Autopsie* : Congestion intense du poumon.

N° 43, 380 grammes, infecté le 11 août, l'examen du sang est positif 7 jours après. Après trente-quatre jours seulement, les parasites sont en assez grand nombre. Le 14 septembre, on lui injecte 1 cent. cube de téribenthine. Les trypan. étaient déjà très rares après vingt-quatre heures et, pendant les 5 jours qui suivent, on trouve à peine un trypan. pour 4 ou 5 champs microscopiques. Le 15 octobre, le cobaye est trouvé mort. Evolution de la maladie, 65 jours. *Autopsie* : Congestion intense des organes parenchymateux.

Les témoins de ces deux séries sont au nombre de 9 : 5 pour les cobayes infectés avec le trypanosome de l'Ouganda et 4 pour ceux infectés avec le trypanosome du Surra.

*a) Témoins avec Ouganda :*

N° 14, 540 grammes, infecté le 25 juillet. Après 8 jours, les trypan. apparaissent dans le sang, et ils se multiplient progressivement jusqu'à la mort de l'animal (le 2 août). Evolution de la maladie, 17 jours. *Autopsie* : Congestion des organes parenchymateux avec hypertrophie de la rate.

N° 15, 500 grammes, infecté le 1<sup>er</sup> juin. L'examen du sang est positif 5 jours après l'inoculation. Pendant toute la durée de la maladie, les trypan. ont été très nombreux jusqu'à la mort (le 26 juillet). Evolution de la maladie, 16 jours. *Autopsie* : Congestion intense des organes.

N° 16, 513 grammes, infecté le 1<sup>er</sup> juin. Les trypan. apparaissent dans le sang en grand nombre 6 jours après l'inoculation et ils se maintiennent jusqu'à la mort de l'animal (le 25 juin). Evolution de la maladie : 24 jours. *Autopsie* : Congestion des organes; hypertrophie de la rate.

N° 17, 480 grammes, infecté le 17 août. Les parasites ont apparu 4 jours après l'inoculation. Ils sont très nombreux et le restent jusqu'à la mort, survenue le 9 septembre. Evolution de la maladie : 23 jours. *Autopsie* : Congestion intense du poumon.

N° 18, 440 grammes, infecté le 25 septembre. Les trypan. ont apparu en grand nombre 6 jours après l'inoculation. Evolution de la maladie : 39 jours. *Autopsie* : Rate hypertrophiée.

*b) Témoins avec Surra :*

N° 19, 550 grammes, infecté le 1<sup>er</sup> juin. Après 9 jours, les trypan. ont apparu dans le sang et ils se sont maintenus (quelquefois extrêmement rares) jusqu'à la mort (le 4 juillet). Evolution de la maladie : 32 jours. *Autopsie* : Congestion des viscères abdominaux.

N° 20, 560 grammes, infecté le 8 juillet; après 5 jours, il avait dans le sang des parasites nombreux, qui se sont maintenus jusqu'à la mort, le 19 août. Pendant l'évolution de la maladie, 5 jours avant la mort, il a fait une crise

## ACTION DES ABCÈS DE FIXATION SUR LA TRYPANOSOMIASE 13

après laquelle, pendant 2 jours, l'examen du sang fut négatif. Evolution de la maladie : 39 jours. *Autopsie* : Congestion des organes.

N° 21, 390 grammes, infecté le 25 juillet; 6 jours après, l'examen du sang est positif jusqu'au 7 août. A partir de cette date, les parasites deviennent très rares et plusieurs jours de suite l'examen est même complètement négatif. L'animal est mort sans avoir de trypan. dans le sang (le 22 août). Evolution de la maladie : 27 jours. *Autopsie* : Congestion du poumon et pleurésie séro-fibrineuse.

N° 22, 450 grammes, infecté le 26 juillet; après trois jours, il avait des trypan., qui se sont maintenus jusqu'à la mort, le plus souvent en très petit nombre. L'animal succomba le 10 septembre. Evolution de la maladie : 45 jours. *Autopsie* : Congestion intense des organes.

Il résulte de ces expériences que :

1<sup>o</sup> L'essence de térébenthine, injectée au moment de l'infection, par l'abcès de fixation qu'elle détermine, retarde de quelques jours l'apparition des trypan. dans le sang chez les cobayes infectés avec le trypanosome de l'Ouganda ou celui du Surra;

2<sup>o</sup> Injectée chez les cobayes en pleine infection, c'est-à-dire quand ils présentent dans le sang le maximum de trypan., elle en diminue le nombre. En général, cette diminution se présente au bout de vingt-quatre ou quarante-huit heures et elle aboutit le plus souvent à leur disparition complète; pendant quatre ou cinq jours, le sang ne présente plus de parasites. Cette disparition n'est que momentanée et on voit ensuite les trypan. réapparaître progressivement;

3<sup>o</sup> Malgré les sévères conditions d'expérimentation (surtout pour les cobayes de la deuxième série, chez lesquels le traitement était commencé après 12 ou 15 jours de maladie), il y a souvent une survie notable des animaux traités par rapport aux témoins;

4<sup>o</sup> Toute injection de térébenthine entraînant une réaction locale inflammatoire suffisamment intense, provoque inévitablement la régression ou la disparition passagère des trypanosomes.

### CATÉGORIE B.

Les cobayes de cette catégorie ont toujours été infectés par la voie péritonéale avec le trypanosome de l'Ouganda et soumis ensuite au traitement par l'atoxyl et l'essence de térébenthine.

*Première série.* — Ces cobayes ont reçu chacun *deux* injections de térébenthine et d'atoxyl.

*Lot a.* — Les animaux de ce lot ont toujours reçu la première injection de térébenthine en même temps que l'inoculation du trypanosome et la première injection d'atoxyl quand les parasites étaient très nombreux dans le sang.

N° 23, 400 grammes, infecté le 20 octobre et injecté le même jour avec 1 cent. cube d'essence de térébenthine. Les trypan. ont apparu dans le sang 8 jours après et deviennent très nombreux 6 jours plus tard. *Le 7 novembre*, on lui injecte 0,015 gr. d'atoxyl. Le 14 novembre, il reçoit de nouveau, simultanément et en quantités égales, de l'essence de térébenthine et de l'atoxyl. Il n'y a pas de réaction locale; les trypan. pendant 4 jours sont très rares. Après cet intervalle ils se multiplient progressivement jusqu'à la mort (le 28 novembre). Évolution de la maladie : 38 jours. *Autopsie* : Congestion intense des organes; nécrose des muscles de la cuisse gauche.

N° 24, 430 grammes, infecté et injecté avec térébenthine le 20 octobre. Les parasites ont apparu dans le sang 9 jours après et pendant 7 jours ils sont en petit nombre. Le 7 novembre, il reçoit la première injection d'atoxyl (0,015 gr.); les trypan. se maintiennent très nombreux. Le 13 novembre, il reçoit la deuxième injection de térébenthine et d'atoxyl. 48 heures après l'examen du sang est négatif. *Le 22 novembre*, l'animal succombe. Evolution de la maladie : 32 jours. *Autopsie* : hémorragie abdominale consécutive à la rupture du foie.

*Lot b.* — Ces cobayes recevaient simultanément les injections de térébenthine et d'atoxyl. Les deux premières étaient toujours faites à l'acmé de la maladie.

Voici trois observations :

N° 25, 390 grammes, infecté le 20 octobre. Après 5 jours, les trypan. apparaissent dans le sang. *Le 7 novembre*, ils étaient extrêmement nombreux. Le cobaye reçoit la première inoculation de térébenthine (1 cent. cube) et d'atoxyl (0,020 g.). Les trypan. ont complètement disparu, et ce n'est qu'après 6 jours que nous avons trouvé un parasite dans la préparation. *Le 13 novembre*, deuxième injection de térébenthine et d'atoxyl (mêmes quantités), après laquelle, pendant encore 5 jours, disparition des parasites. Après cet intervalle, ils ont réapparu, au commencement moins nombreux, au bout de 5 jours et jusqu'à la mort très nombreux. Evolution de la maladie : 37 jours. *Autopsie* : Les organes de la cavité abdominale un peu congestionnés, un abcès dans la fesse gauche.

N° 26, 390 grammes, infecté le 20 octobre; 6 jours après, les trypan. apparaissent dans le sang et se multiplient très vite. *Le 7 novembre*, première injection de térébenthine et d'atoxyl (les mêmes doses). Pendant les 6 jours suivants, une seule fois nous avons eu un examen positif. *Le 13 novembre*, il reçoit la deuxième injection de ces deux substances (les mêmes doses); pendant 5 jours les parasites disparaissent de nouveau. A la fin ils ont réapparu et ils se sont maintenus dans le sang jusqu'à la mort (le 11 décembre). Évo-

lution de la maladie : 52 jours. *Autopsie* : Congestion intense des organes, rate hypertrophiée.

N° 27, 390 grammes, infecté le 20 octobre. Les parasites ont apparu après 6 jours ; ils deviennent vite très nombreux. *Le 7 novembre*, reçoit la première injection de térébenthine et d'atoxyl (mêmes doses). Les trypan., sans disparaître complètement pendant 4 jours, deviennent très rares. *Le 13 novembre*, deuxième injection, après laquelle pendant 7 jours l'examen du sang reste négatif. Les trypan. réapparaissent ensuite ; très rares au commencement, ils augmentent de plus en plus jusqu'à la mort (le 30 novembre). Évolution de la maladie : 40 jours. *Autopsie* : Congestion et hypertrophie de la rate,

Pour cette série d'expériences, nous avons deux sortes de témoins.

1<sup>o</sup> Témoins infectés avec le trypanosome de l'Ouganda et injectés avec de l'atoxyl. La première injection a toujours été faite quand le cobaye était en pleine maladie.

Voici deux observations :

N° 28, 390 grammes, infecté le 20 octobre ; 6 jours après il avait des trypan. dans le sang. Le 7 novembre, il reçoit la première injection d'atoxyl (0,020 gr.) et, le 13 novembre, la deuxième. L'examen du sang est négatif pendant 4 jours seulement après la deuxième injection ; les parasites deviennent très vite nombreux et augmentent jusqu'à la mort (le 2 décembre). Évolution de la maladie : 52 jours. *Autopsie* : Rate très grosse et congestionnée.

N° 29, 310 grammes, infecté le 20 octobre ; 5 jours après il avait des parasites. Le 7 novembre, il reçoit la première injection d'atoxyl (0,015 gr.), et le 13 novembre la deuxième. Les trypan. disparaissent pendant 4 jours après la première injection ; ils réapparaissent, ne sont pas influencés par la deuxième injection d'atoxyl et augmentent jusqu'à la mort de l'animal (le 15 novembre). Évolution de la maladie : 25 jours. *Autopsie* : Cachexie très prononcée et hyperémie des viscères abdominaux.

2<sup>o</sup> Témoins qui ont été infectés avec le trypanosome de l'Ouganda et n'ont pas été soumis au traitement par l'atoxyl.

Voici deux observations :

N° 30, 480 grammes, infecté le 20 octobre ; 7 jours après, les trypan. apparaissent dans le sang ; ils deviennent vite nombreux et le restent jusqu'à la mort (le 15 décembre) de l'animal. Évolution de la maladie : 45 jours. *Autopsie* : Hypertrophie énorme de la rate.

N° 31, 450 grammes, infecté le 20 octobre ; 6 jours après, les parasites apparaissent dans le sang. Ils deviennent vite extrêmement nombreux et se maintiennent toujours très nombreux jusqu'à la mort (le 13 décembre). Évolution de la maladie : 42 jours. *Autopsie* : Congestion intense du poumon.

*Deuxième série.* — Les cobayes de cette série ont reçu plusieurs injections d'essence de térébenthine et d'atoxyl.

La quantité de térébenthine injectée a été toujours de 4 cent. cube et une nouvelle injection était faite seulement quand l'abcès, produit par l'injection précédente, était ouvert.

Les injections d'atoxyl ont été faites pour un premier lot de huit en huit jours, et pour un deuxième lot de cinq jours en cinq jours, sans tenir compte si les trypanosomes existaient ou non dans le sang. La quantité d'atoxyl par cobaye était de 0,035 grammes en deux injections de 0,015 — 0,020 grammes à intervalle de vingt-quatre heures. Le traitement était commencé deux ou trois jours après l'apparition des trypanosomes dans le sang.

*Lot a.* — Les cobayes ont reçu, d'après la technique indiquée, les injections de térébenthine et celles d'atoxyl de huit en huit jours.

N° 32, 560 grammes, infecté le 22 février: 6 jours après les parasites apparaissent dans le sang. Le 1<sup>er</sup> mars il a reçu la première injection d'atoxyl et de térébenthine. Les injections ont été répétées régulièrement tous les 8 jours (12 injections d'atoxyl et 5 de térébenthine). Les 14 premiers jours les parasites disparaissent complètement. Ensuite ils disparaissent seulement pendant les 4 ou 5 jours qui suivent chaque injection et ils disparaissent également vers la fin de la maladie. Les trypan. étaient toujours en très petit nombre. *Le 30 avril*, l'animal succombe. Evolution de la maladie : 68 jours. *Autopsie* : Pleurésie, péritonite purulente, foie couvert d'une membrane fibrineuse.

N° 33, 650 grammes, infecté le 22 février. Les parasites apparaissent dans le sang 5 jours après, on commence le traitement le 1<sup>er</sup> mars. Il reçoit dans les mêmes conditions, jusqu'au 13 avril, 10 injections d'atoxyl et 5 d'essence de térébenthine. Il n'a présenté que de très rares trypanosomes dans le sang vers la fin de la maladie. On le trouve mort le 14 avril, sans présenter de parasites, mais avec deux grands abcès. Evolution de la maladie : 52 jours.

*Autopsie* : Le cadavre présente un abcès à chaque fesse. Congestion intense du foie et des reins.

N° 34, 415 grammes, infecté le 22 février. Les parasites ont apparu dans le sang 5 jours après. On commence le traitement le 29 février. Pendant 70 jours, l'animal reçoit 12 injections d'atoxyl et 5 injections de térébenthine. Les trypan. disparaissent complètement 48 heures après les deux premières injections, réapparaissent seulement le 5 avril, 31 jours après. Une nouvelle injection d'atoxyl et de térébenthine provoque de nouveau la disparition jusqu'au 5 mai (21 jours). Le 6 mai, mort. Evolution de la maladie : 74 jours. *Autopsie* : Muscles de la cuisse droite complètement atrophiés; un abcès à la cuisse gauche; cadavre complètement cachectique; congestion et œdème du poumon.

*Lot b.* — Les cobayes reçoivent tous des injections d'atoxyl de 5 en 5 jours. On ne répète plus les injections de térébenthine avant que l'abcès soit guéri. On commençait le traitement

quand le nombre des trypanosomes dans le sang était extrêmement grand.

N° 35, 660 grammes, infecté le 15 mars; 4 jours après, présente des trypan. dans le sang. On commence le traitement le 22 mars. L'animal reçoit 4 injections d'atoxyl et une seule de térébenthine. Cette dernière injection a déterminé chez lui une grosse inflammation du pied droit. Les parasites ont disparu 24 heures après le traitement, et ils n'ont plus réapparu jusqu'à la mort (le 4 avril), qui a été provoquée par la gangrène du pied droit. Evolution de la maladie : 20 jours. *Autopsie* : Gangrène du membre postérieur droit. Du même côté, un gros abcès dans la cuisse. Congestion des organes.

N° 36, 750 grammes, infecté le 15 mars. Les trypan. apparaissent 3 jours après dans le sang. Le 23 mars, l'animal reçoit une injection de térébenthine et trois d'atoxyl. Les parasites ont disparu complètement après la première injection. Le 6 avril, l'animal est tué par suite d'un accident. Evolution de la maladie : 22 jours.

N° 37, 520 grammes, infecté le 15 mars. Les trypan. apparaissent 5 jours après dans le sang. Le 23 mars, on commence le traitement. L'animal reçoit jusqu'au 26 avril 10 injections d'atoxyl et 3 de térébenthine. Les trypan. disparaissent complètement après la première injection. La dernière injection a été faite 24 jours avant la mort. Evolution de la maladie : 67 jours. *Autopsie* : Congestion des organes de la cavité abdominale.

N° 38, 350 grammes, infecté le 18 octobre 1912. 13 jours après, les trypan. apparaissent dans le sang. On commence le traitement le 4 novembre, et jusqu'au 3 décembre, il a reçu 10 injections d'atoxyl et 4 de térébenthine. Les parasites disparus 48 heures après le commencement du traitement, ne sont plus réapparus. L'animal est mort accidentellement le 29 janvier. Evolution de la maladie, 101 jours. *Autopsie* : Hémorragie abdominale consécutive à la rupture du foie.

N° 39, 416 grammes, infecté le 18 octobre 1912. 5 jours après, les trypan. apparaissent dans le sang. Le traitement, commencé le 4 novembre, l'animal reçoit jusqu'au 1<sup>er</sup> février 1913, 10 injections d'atoxyl et 4 de térébenthine; la dernière étant faite 58 jours avant la mort. Les trypan. disparaissent complètement après la première injection, 62 jours de suite. Réapparus 17 jours après la dernière injection, ils s'y sont maintenus jusqu'à la mort. Evolution de la maladie, 104 jours. *Autopsie* : La rate hypertrophiée, le foie congestionné et plein de nodules blancs.

N° 40, 440 grammes, infecté le 18 octobre 1912. Présente 4 jours après des trypan. dans le sang. On commence le traitement le 4 novembre. L'animal reçoit 10 injections d'atoxyl et 4 de térébenthine; la dernière étant faite 67 jours avant la mort. Les trypan., disparus 2 jours après le traitement, sont réapparus 26 jours avant la mort (le 10 février). Evolution de la maladie, 113 jours. *Autopsie* : Cachexie, congestion des organes.

N° 41, 650 grammes, infecté le 2 novembre 1912. Présente 3 jours après des trypan. dans le sang. On commence le traitement le 11 novembre, l'animal recevant dans un intervalle de 21 jours, 8 injections d'atoxyl et 2 de térébenthine. Les parasites ont disparu du sang 24 heures après la première injection et ils n'y sont plus réapparus jusqu'à la mort. Le 13 décembre (4 jours avant la mort), le cobaye a fait une paraplégie. Une souris inoculée dans le péritoine avec le sang de l'animal n'a rien donné. Evolution de la maladie, 47 jours. *Autopsie* : Congestion des organes.

Nous avons fait également deux séries différentes de témoins :

1<sup>o</sup> Dans la première série, les témoins infectés avec le trypanosome d'Ouganda étaient soumis au traitement exclusif par l'atoxyl. Les injections étaient faites tous les 8 ou tous les 5 jours.

N<sup>o</sup> 42, 585 grammes, infecté le 22 février, présente des trypan. dans le sang 4 jours après. On commençait le traitement le 1<sup>er</sup> mars et avec un total de 12 injections d'atoxyl. Après les deux premières injections, les trypan. ne disparaissent que pendant 4 ou 5 jours. On trouve l'animal mort le 18 mai; évolution de 86 jours; parasites en quantité pendant 2 mois dans le sang. *Autopsie* : Rate hypertrophiée et congestionnée; oedème du poumon.

N<sup>o</sup> 43, 770 grammes, infecté le 22 février, présente 3 jours après des trypan. dans le sang. Le traitement, commencé le 29 mars (jusqu'au 26 avril), consiste en 13 injections d'atoxyl. Les trypan. ne disparaissent que vers la fin de la maladie, 4 ou 5 jours après chaque injection. L'animal succombe le 1<sup>er</sup> mai après une évolution de la maladie de 68 jours. *Autopsie* : Congestion et hypertrophie de la rate; congestion des reins.

N<sup>o</sup> 44, 560 grammes, infecté le 15 mars, présente 3 jours après des trypan. dans le sang. Le traitement, commencé le 22 mars, consistait en 8 injections d'atoxyl. Après chaque injection, les parasites devenaient un peu moins nombreux; une fois seulement ils ont disparu pendant 4 jours. L'animal succombe le 28 avril après une évolution de 44 jours. *Autopsie* : cachexie intense; congestion du foie.

N<sup>o</sup> 45, 600 grammes, infecté le 15 mars, présentait 4 jours après des trypan. dans le sang. Le traitement commencé le 22 mars, consistait en 6 injections d'atoxyl. Les parasites ne disparaissent que pendant 4 ou 5 jours après les trois dernières injections. L'animal succombe le 24 avril, après 40 jours de maladie. *Autopsie* : Congestion intense du poumon.

N<sup>o</sup> 46, 460 grammes, infecté le 18 octobre 1912. Les parasites apparaissent dans le sang 9 jours après. Le traitement, commencé le 5 novembre, l'animal reçoit jusqu'au 3 décembre 10 injections d'atoxyl. Après la première injection, les trypan. ont disparu et ils ne réapparaissent que le 7 janvier (35 jours après la dernière injection). Evolution de la maladie, 108 jours. *Autopsie* : Hypertrophie énorme de la rate. Congestion du foie et des capsules.

N<sup>o</sup> 47, 350 grammes, infecté le 18 octobre 1912. Les trypan. apparaissent dans le sang 4 jours après. Le 4 novembre, on commence le traitement. L'animal a reçu 10 doses d'atoxyl. Les parasites, disparus après la première injection, n'apparaissent plus que le 24 décembre (21 jours après la dernière injection). Le cobaye est mort le 20 janvier, ayant nombreux trypan. Evolution de la maladie 92 jours.

N<sup>o</sup> 48, 700 grammes, infecté le 2 novembre. Les parasites apparaissent dans le sang 7 jours après. Le traitement a commencé le 12 novembre, et jusqu'au 2 décembre le cobaye a reçu 8 injections d'atoxyl. Les trypan. ont disparu seulement les 10 jours qui suivaient les 4 premières injections. Réapparus, ils se sont maintenus dans le sang jusqu'à la fin, 19 décembre. Evolution de la maladie, 47 jours. *Autopsie* : Congestion des organes.

2<sup>o</sup> Témoins qui ont été infectés avec le trypanosome de l'Ouganda, sans être soumis ensuite au traitement par l'atoxyl.

N° 49, 620 grammes, infecté le 22 février; 3 jours après, il avait des trypan. dans le sang. En deux jours, ils deviennent innombrables et ils se maintiennent jusqu'à la mort (le 3 mars). Evolution de la maladie : 12 jours. *Autopsie* : Congestion intense des organes.

N° 50, 580 grammes, injecté le 22 février. Après 5 jours, les trypan. ont apparu dans le sang et ils se sont maintenus jusqu'à la mort (le 26 mars) en très grand nombre. Evolution de la maladie : 32 jours. *Autopsie* : Congestion et hypertrophie de la rate et congestion intense du foie.

N° 51, 450 grammes, infecté le 15 mars. Les trypan. ont apparu dans le sang 5 jours après, et 4 jours plus tard ils étaient innombrables; ils se sont maintenus ainsi jusqu'à la mort, le 26 avril. Evolution de la maladie 41 jours. *Autopsie* : Congestion intense de tous les organes de la cavité abdominale.

N° 52, 255 grammes, a été infecté le 22 février. Les parasites ont apparu dans le sang après cinq jours. Pendant 20 jours, leur nombre était très variable, mais après cet intervalle ils sont devenus innombrables et ils se sont maintenus jusqu'à la mort (le 19 avril). Evolution de la maladie : 57 jours. *Autopsie* : Congestion et hypertrophie de la rate; congestion du poumon.

Il résulte de ces expériences que :

1° Chez les cobayes infectés avec le trypanosome de l'Ouganda, la disparition de celui-ci après les injections répétées d'atoxyl n'est pas constante. Elle est généralement passagère; cependant, dans certains cas, on n'observe aucune diminution du nombre des trypan., malgré les injections répétées d'atoxyl. On constate exceptionnellement une disparition de longue durée;

2° Chez les cobayes infectés avec le même trypan., les injections d'atoxyl associées avec les abcès de fixation (produits par l'essence de térébenthine) font toujours disparaître et pour plusieurs jours les trypan. du sang;

3° Quand on combine avec les abcès de fixation les injections d'atoxyl souvent répétées, on arrive presque toujours à faire disparaître complètement les trypan. pour longtemps; parfois on constate même une survie notable de l'animal, mais on ne peut obtenir la guérison complète et définitive;

4° Les cobayes de 400 et 600 grammes peuvent bien supporter jusqu'à 12-13 injections d'atoxyl et peut-être davantage (chaque injection étant entre 0,015 à 0,020 grammes). Quant aux abcès de fixation, il ne faut pas dépasser la dose de 1 cent. cube d'essence de térébenthine, le nombre des injections possibles se trouve limité du fait de l'amaigrissement qu'elles entraînent chez les animaux gardés longtemps en observation. C'est à cette cause que l'on peut rapporter la mort de certains animaux avant les témoins;

5° Le traitement mixte apparaît supérieur au traitement par l'atoxyl seul. L'essence de térébenthine, par elle-même ou par l'abcès de fixation qu'elle provoque, facilite probablement la formation de trypanotoxyl, véritable substance active de l'atoxyl sur les trypanosomes dans les organismes infectés ;

6° En somme, il est évident que le traitement par l'essence de térébenthine seule, ou mieux le traitement combiné, est un obstacle momentané à la multiplication des trypan. dans le sang. Pour cette raison, on doit l'ajouter au traitement des trypanosomiases chez les animaux résistants aux arsenicaux, pour faciliter l'action de ces dernières substances sur les trypan. abrités dans les capillaires de divers organes ;

7° Il nous semble que cette question mérite d'être reprise en pratique, pour traiter les grands animaux qui sont plus forts et chez lesquels on peut entretenir des abcès de fixation avec forte réaction locale sans débiliter beaucoup l'organisme.

En terminant ce travail, nous tenons à adresser nos sincères remerciements à M. le professeur Mesnil pour l'accueil cordial que nous avons reçu dans son laboratoire.

# RECHERCHES DE PHYSIOLOGIE VÉGÉTALE

( QUATRIÈME MÉMOIRE )

## INFLUENCES RESPECTIVES DES ÉLÉMENTS DE LA SOLUTION MINÉRALE SUR LE DÉVELOPPEMENT DU MAÏS

par P. MAZÉ.

(Avec les planches I, II, III, IV.)

Il résulte des conclusions des trois mémoires précédents que le maïs peut être considéré maintenant comme une plante docile à toute sollicitation expérimentale.

Il est donc possible d'entreprendre l'étude des influences qu'exerce sur son développement chacun des éléments qui entrent dans la composition de la solution minérale.

Tous les corps que j'y ai introduits ne sont pas nécessaires de prime abord : on ne voit pas bien, par exemple, le bénéfice que la plante retire, dans tous les cas, du carbonate de calcium en excès, surtout si le calcium entre déjà dans un autre composé présent dans la solution.

Il s'agit d'en démontrer l'utilité.

Je n'ai pas établi non plus que les solutions constituées par tous les éléments que j'ai employés sont capables d'assurer la fructification du maïs, lorsqu'on fait usage d'eau distillée chimiquement pure. Chaque fois que je me suis proposé d'atteindre ce but, j'ai eu recours à l'eau de source afin d'éviter les tâtonnements indéfinis qu'une solution mal équilibrée et privée d'un ou de plusieurs éléments nécessaires m'aurait forcément imposés.

L'expérience démontrera qu'une solution faite avec de l'eau distillée pure additionnée de tous les éléments que j'ai mis en œuvre ne permet pas l'évolution complète du maïs. Comme je ne connais pas encore ceux qui lui manquent, l'étude des autres éléments peut paraître prématurée.

Il n'en est rien ; on peut, en effet, négliger ce détail parce que les solutions que j'ai employées satisfont, on le sait, à la

loi des rapports physiologiques. Une solution qui ne remplirait pas cette condition serait impropre à l'étude des questions que je vais aborder.

Elle ne permet pas, en effet, d'affirmer si le retard ou l'arrêt de la végétation provoqué par la suppression d'un élément est dû à son absence, ou s'il doit être attribué à une cause d'ordre physiologique dont l'origine réside dans une modification de la solution survenue au cours de la végétation.

Toutes les tentatives faites jusqu'ici dans le but de démontrer l'utilité encore contestée de tel ou tel élément ne lèvent pas ce doute, pour la raison que je viens d'indiquer. Je n'aurai donc pas à me prononcer entre les diverses opinions qui admettent que le fluor, l'iode, l'aluminium, le bore, etc., peuvent exercer une influence heureuse sur le développement des végétaux supérieurs.

Je ne conclurai pas davantage à la nécessité d'employer l'un des éléments qui entrent dans mes solutions, si sa suppression n'aboutit pas à la mort de la plante ou à un arrêt très net de la végétation. C'est le cas du silicium. Les plantes privées de silicates, autres que ceux qui entrent dans la composition du verre des flacons de culture, m'ont fourni des retards de développement; mais, comme mes résultats, trop peu nombreux, ne me permettent pas de donner des symptômes plus caractéristiques de la privation de silicium, je les passerai provisoirement sous silence.

Considérons donc une solution à base d'eau distillée pure, constituée par les divers éléments que j'ai employés et satisfaisant à la loi des rapports physiologiques. On pourra légitimement se prononcer sur l'utilité de l'un quelconque de ses composants, si sa suppression provoque l'arrêt de la végétation bien avant que ce symptôme ne devienne évident chez les plantes témoins qui poussent dans la solution complète. On aura aussi le droit d'affirmer qu'un ou plusieurs éléments manquent dans la solution complète, si une liqueur témoin préparée avec de l'eau de source permet à la plante de former et de mûrir ses graines, pendant que la première entraîne sa mort avant ou pendant la floraison.

Il est superflu d'ajouter que je ne me suis pas astreint à remettre à l'étude l'utilité de tous les éléments de la solution

considérés, bien entendu, individuellement. On est suffisamment fixé sur le rôle de l'azote, du phosphore, du potassium, du calcium, du magnésium, du chlore. Je ferai remarquer simplement que la suppression de l'un de ces corps n'entraîne pas la décoloration des organes aériens du maïs. La chlorophylle est moins abondante, mais elle persiste toujours dans les feuilles qui continuent de végéter péniblement, à mesure qu'elles reçoivent de celles qui se fanent des portions de plus en plus faibles de l'élément qui manque.

J'aurais pu joindre à la liste précédente le soufre et le fer, dont la privation affecte bien plus le développement du maïs que l'absence du chlore.

Mais comme c'est leur étude qui a été la plus féconde en résultats nouveaux, je l'exposerai longuement.

Cette ventilation faite, j'examinerai donc l'influence du carbonate de calcium, du soufre, du fer, du manganèse et du zinc sur le développement du maïs.

#### INFLUENCE DU CARBONATE DE CALCIUM.

L'addition de carbonate de calcium à la solution nutritive est une précaution dont l'utilité n'est pas évidente. Le calcium a été employé rarement sous cet état en pareille occurrence, et l'on s'étonnera peut-être de me voir affirmer que c'est grâce à lui que j'ai pu réussir à assurer la fructification du maïs. Mais comme on a saisi toute l'importance des échanges qui se font entre la plante et la liqueur nutritive, il n'est pas excessif d'avancer une affirmation aussi catégorique.

Je n'ai pas hésité à lui attribuer la fructification du maïs alimenté avec du chlorure d'ammonium (2<sup>e</sup> mémoire) (1).

Pour donner plus de force à cette conclusion, j'ai placé une série de six plantules de maïs dans des solutions  $P \times 4$  préparées avec de l'eau distillée et pourvues de chlorure d'ammonium comme aliment azoté. Un lot se développait en présence de carbonate de calcium; l'autre en était privé; mais on avait pris la précaution d'offrir à ce dernier le calcium à l'état de chlorure, à raison de 0,2 p. 1.000.

(1) *Ces Annales*, août 1913, p. 663, t. XXVII.

Le résultat est inscrit dans la figure 4 :

Il est très probant, comme on peut le constater, et je consi-

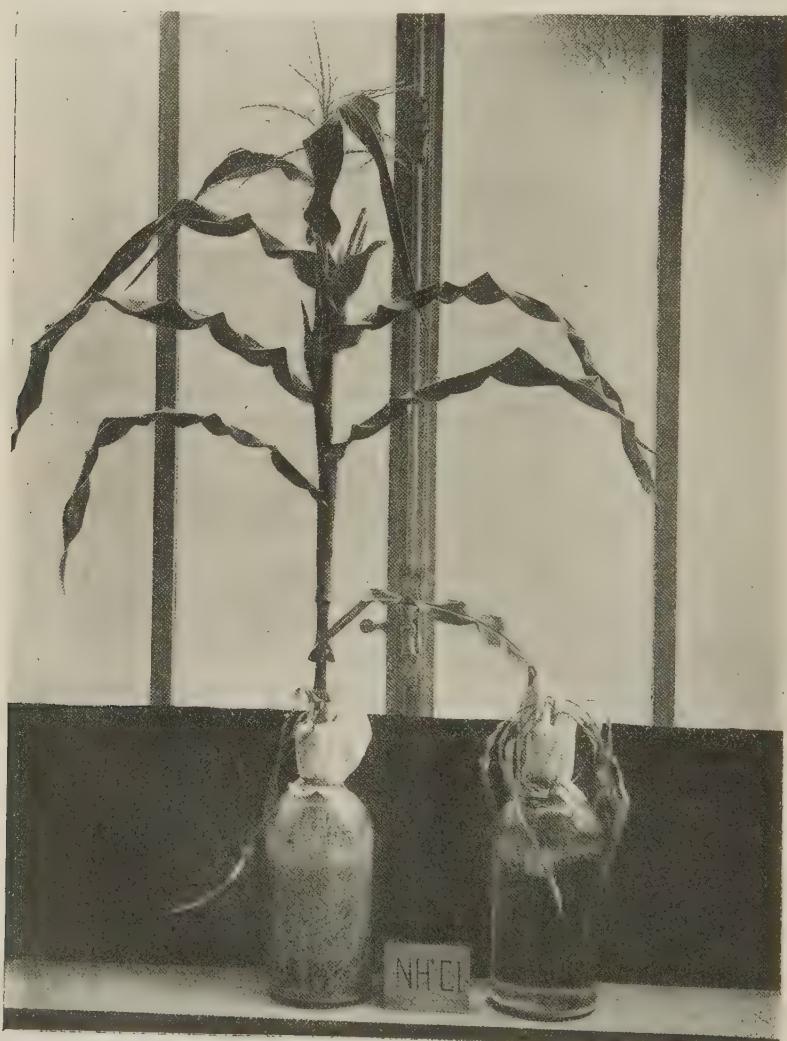


FIG. 4.

dère qu'il est tout à fait superflu de le traduire par des chiffres dont l'écart peut atteindre facilement 50 grammes.

Les plantes qui ont végété dans la solution privée de carbo-

nate se sont développées comme les témoins pendant quelques jours; on peut vérifier sur la photographie que les premières racines sont longues et ramifiées; mais elles ne sont pas nombreuses; celles qui se sont formées par la suite cessent de s'allonger dès qu'elles atteignent le liquide; leur nombre s'est accru jusqu'à la mort de la plante, survenue quatre ou cinq jours avant la date de la photographie.

Elles forment une sorte de cône dont la pointe est placée au niveau du goulot et dont la base est constituée par la surface libre du liquide.

Ces particularités laissent entendre que la solution s'est modifiée profondément au cours de la végétation; mais on conçoit difficilement que l'acidification, presque négligeable en raison de la faible quantité de chlorure d'ammonium mis en œuvre dans 4 litres et demi de solution nutritive, constitue la cause unique d'un effet aussi considérable (1).

Il est vraisemblable qu'elle n'a été qu'un facteur prédisposant vis-à-vis d'une autre influence que nous allons découvrir dans la solubilisation des éléments rares ou catalytiques si l'on préfère.

Si, en effet, le carbonate de calcium agit uniquement comme régulateur de l'acidification, on doit noter une différence d'action faible ou inappréciable entre les solutions pourvues ou privées de carbonate de calcium lorsque l'aliment azoté est le nitrate d'ammonium.

J'ai montré, en effet, que le nitrate d'ammonium, assimilable sans résidu, influe peu sur la réaction de la solution nutritive; mais elle s'acidifie cependant pour les raisons que j'ai indiquées (2).

La figure 2 montre que les maïs privés de carbonate accusent un retard considérable sur les plantes témoins.

Leurs racines traduisent l'action nocive de la solution; elles n'atteignent pas le fond des flacons; leur aspect est très différent de celui que présentent les racines des plantes témoins.

Les organes aériens dénotent aussi des symptômes d'intoxication; les feuilles sont striées de bandes longitudinales de

(1) Quand l'aliment azoté est le sulfate d'ammonium, les résultats sont de même ordre.

(2) Ces *Annales*, no 8, 1913, page 661, t. XXV

parenchyme parcheminé, privé de chlorophylle; les cellules qui les constituent se gélifient dans le bourgeon même, et les feuilles restent enroulées, au lieu de s'épanouir, fortement attachées par cette gelée qui fait office de colle.



FIG. 2.

Les résultats sont de tout point semblables aux précédents lorsqu'on fait usage de nitrate de sodium comme aliment azoté; cependant les racines s'allongent davantage.

Cette fois c'est l'alcalinité qu'il faut incriminer; mais pas

plus que dans les deux séries précédentes son influence ne suffit seule à expliquer les effets observés; le carbonate de calcium n'atténue pas l'alcalinité de la solution nutritive pourvue de nitrate de sodium; malgré cela, les racines présentent un aspect normal dans les liqueurs ainsi alcalinisées jusqu'au moment où survient l'arrêt de la végétation qui n'est jamais



FIG. 3.

définitif avant la floraison, dans les solutions de concentration  $P \times 4$ .

Il faut donc recourir ici encore à une influence due à une modification de composition de la solution. Les éléments rares insolubilisés en grande partie à l'état de phosphates se dissolvent à la faveur de l'alcalinité; l'oxyde de zinc en particulier est très soluble en présence de carbonate de sodium et de très petites quantités d'acides organiques.

Nous voici donc amenés par les faits à vérifier la tolérance du maïs pour les composés minéraux solubles du fer, du manganèse et du zinc.

Cette vérification a été faite de la façon suivante : Les plantules développées à l'abri des microbes dans l'eau distillée sont transvasées dans des flacons de 2 litres de capacité, renfermant des solutions de nitrate de fer, de nitrate de manganèse, de nitrate de zinc à des concentrations variant de 1/10.000 à 1/200.000, stérilisées préalablement.

Ces solutions ont été préparées avec de l'eau distillée pure ; j'ai donné la préférence aux nitrates parce que l'acide nitrique est mieux utilisé que les autres acides minéraux.

Les résultats montrent que l'action nocive exercée par le nitrate de zinc et le nitrate de manganèse se traduit encore par l'aspect des racines jusqu'à la concentration de 1/160.000 ; elle reste perceptible pour le fer jusqu'à la dose de 1/100.000 ; mais ces conditions de dilution extrême ne nuisent pas à la longévité des plantules, qui n'offrent du côté des organes aériens que très peu de différences avec les plantes qui végètent dans l'eau distillée pure.

En deçà de ces limites de dilution, l'influence nuisible des éléments considérés augmente rapidement.

La dose 1/40.000 de nitrate de manganèse ou de nitrate de zinc empêche le développement des racines, et entraîne en moins d'un mois la mort des plantules ; la richesse de la solution en zinc et en manganèse est cependant bien inférieure à celle des solutions complètes de concentration  $P \times 1$ , où leur présence est indispensable.

Avec le nitrate de fer, la dose paralysante atteint 1/10.000 et, chose assez curieuse, ses effets ne sont pas plus sensibles à 1/5.000 et à 1/4.000 ; cette particularité s'explique par ce fait que les racines, qui ne se développent pas, peuvent cependant s'adapter et s'opposer à l'absorption du fer.

Ces faits démontrent que le fer, le manganèse et le zinc sont très toxiques pour le maïs, à la concentration que j'ai adaptée pour les milieux complets, lorsqu'ils sont maintenus en solution.

Si leur influence nuisible ne s'est pas fait sentir sur le développement de la plante, c'est parce que le carbonate de cal-

cium les insolubilise. On s'explique ainsi que la suppression du carbonate de calcium, qui rend leur solubilisation possible par l'acidification et même par l'alcalinisation progressives de la liqueur, entraîne l'arrêt de la végétation et gêne dès les premiers jours le développement des racines.

Le carbonate de calcium exerce donc une influence doublement utile sur le développement du maïs dans les milieux minéraux :

Il atténue l'acidité des solutions de sulfate et de chlorure d'ammonium ; il précipite les éléments terreux et les rend inoffensifs ; mais comme ils sont indispensables, la plante les absorbe, bien qu'ils soient insolubles, avec le concours des excréptions de ses racines ; elle peut ainsi régler exactement leur absorption sur la consommation qu'elle en fait, et éviter d'introduire dans la sève des éléments qui deviennent toxiques dès qu'ils s'y accumulent.

Le rôle du carbonate de calcium méritait, comme on le voit, d'être examiné de près ; il est évident qu'il ne se comporte pas autrement dans la terre. J'en avais le pressentiment déjà en 1897, lorsque je l'ai introduit pour la première fois dans les solutions dont je me servais ; on peut d'ailleurs constater que mes solutions n'ont pas varié depuis, dans leur nature (1). Mais à cette époque, le carbonate de calcium devait y remplir une des conditions que les sols fertiles réalisent invariablement. L'expérience prouve que la mesure était fortement justifiée.

L'introduction du fer, du manganèse et du zinc dans ces solutions, conformément aux indications tirées de la composition des cendres végétales, et du mémorable travail de Raulin sur *l'Aspergillus niger*, n'était pas moins heureux, comme on va le voir.

Il convient en effet de justifier leur emploi ; si je ne l'ai pas discuté jusqu'ici, c'est parce que je n'avais pas à ma disposition le critérium indispensable : la connaissance précise des conditions de la fructification.

(1) *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XIV, p. 30, 1900.

## INFLUENCE DU SOUFRE ET DU FER SUR LE DÉVELOPPEMENT DU MAÏS.

Le soufre et le fer figurent parmi les éléments nécessaires aux végétaux supérieurs. Il s'agit donc moins d'insister sur leur utilité que d'examiner leur rôle avec les moyens que nous pouvons mettre en œuvre.

Leur influence sur la couleur verte des végétaux supérieurs a été également mise en évidence, celle du soufre dans le sulfatage des légumineuses, qui prennent une couleur plus foncée après le traitement; celle du fer dans la production de la chlorophylle.

Mais ni l'un ni l'autre élément n'entre dans la composition de la matière verte des végétaux; l'étude de leur rôle dans la végétation ne perd pas pour cela de son intérêt, bien au contraire.

J'ai donc préparé des solutions minérales privées de soufre ou de fer avec de l'eau distillée pure. Pour supprimer le soufre, j'ai remplacé le sulfate de magnésium par du chlorure et le sulfate ferreux par du nitrate; le fer a été éliminé par la suppression du sulfate ferreux.

Les cultures, poursuivies pendant trois années consécutives à partir de 1910, ont porté sur plusieurs milieux différent par la nature de l'aliment azoté; j'ai employé parallèlement ou successivement les nitrates de sodium, d'ammonium et de calcium. La concentration des solutions a toujours été  $P \times \frac{1}{2}$ ; cette précaution avait pour but de réduire autant que possible les impuretés chimiques que les divers sels employés introduisent dans la solution. Les cultures ont été faites dans des flacons de 2 litres de capacité (1).

Les plantes privées de soufre ou de fer évoluent exactement de la même manière. L'apparition de la chlorose est quelquefois plus précoce, quelquefois plus tardive chez les maïs privés de soufre que chez ceux qui sont privés de fer; mais l'écart ne dépasse jamais plus de trois ou quatre jours. C'est

(1) Les plantes qui sont représentées dans les figures 4, 5, 6, 7 et 8 ont végété dans des solutions  $P \times \frac{1}{2} \text{NO}_3\text{NH}_4$ .

pour cette raison que je ne me suis pas astreint à exposer les deux séries d'expériences dans deux chapitres séparés; j'y trouve l'avantage d'éviter les répétitions.

L'évolution des plantes soumises à l'expérience ne diffère pas, pendant quelques jours, de celle des maïs placés dans des solutions complètes.

La figure 4, qui reproduit une série de plantes âgées de 20 jours, vient à l'appui de cette assertion.

Quelques jours plus tard, les conditions changent; la chlorose apparaît brusquement chez les plantes privées de soufre ou de fer (fig. 5), elle se manifeste par la décoloration gra-



FIG. 4.

De gauche à droite :

2 plantes privées de Zn.	2 plantes privées de Cl.
2 plantes témoins.	2 plantes privées de S.
2 plantes privées de Mn.	1 plante privée de Fe.

uelle de la première feuille atteinte, qui est presque toujours la quatrième formée après le transvasement des plantules. Les suivantes sont entièrement décolorées, y compris les cellules qui avoisinent les faisceaux vasculaires, lesquelles conservent généralement leur teinte verte dans la chlorose naturelle, et font ressortir ainsi d'une façon très nette les parcours sinueux des nervures les plus fines. (V. Pl. III).

A partir de ce moment, la végétation se ralentit, les premières feuilles chlorotiques atteignent cependant une taille peu différente de celles qui les précèdent. Les suivantes sont de plus en plus réduites.

Cet aspect persiste pendant plusieurs semaines; puis les

feuilles inférieures vertes se dessèchent. La tige reprend alors sa croissance et la chlorophylle apparaît sur les dernières feuilles très réduites qui se forment pendant cette deuxième phase du développement. Le fer ou le soufre libérés par la mort des feuilles vertes a provoqué vraisemblablement cette reprise d'activité qui aboutit à la formation d'une plante naine où l'épis femelle fait toujours défaut, et l'épi mâle est réduit à un pinceau minuscule d'axes avortés et privés de toute formation



FIG. 5.

De gauche à droite :

1 plante privée de Zn.  
1 plante témoin.  
1 plante privée de Mn.

1 plante privée de Cl.  
1 plante privée de S, chlorotique.  
1 plante privée de Fe, chlorotique.

florale. Le poids moyen des plantes varie de 4 à 6 grammes.

Le parenchyme des cellules décolorées est transparent sur beaucoup de points; on constate, à l'œil nu, que ces cellules sont dépourvues de toute trace de réserve et presque de matières protoplasmiques; elles diffèrent en cela des cellules décolorées du maïs panaché qui forment un tissu opaque et dense.

Pour faire apparaître la chlorophylle, il suffit de déposer sur les feuilles des gouttelettes de sulfate d'ammonium ou d'azotate de fer en solution à 2 ou 4 décigrammes par litre. Au bout de 3 jours après le traitement, les cellules qui ont reçu les traces

de sulfate ou de nitrate de fer abandonnés par l'évaporation des gouttelettes, tranchent nettement par leur couleur verte sur le parenchyme environnant. La couleur s'accentue avec le temps, et les cellules, ainsi alimentées directement en soufre ou en fer, reprennent leur activité fonctionnelle.

Maintenant que nous savons que la transpiration constitue un moyen de contrôle et de mesure de cette activité, il nous



FIG. 6.

De gauche à droite :

2 plantes privées de Zn.  
2 plantes privées de Mn.

2 plantes privées de Zn + Mn.  
Voir pour le témoin la fig. 5.

est facile de démontrer cette dernière proposition par l'expérience aussi bien que par la recherche de l'amidon dans les corps chlorophylliens.

Si, en effet, on coupe les feuilles qui présentent des taches vertes bien formées, et qu'on les place entre deux plaques de verre pour les exposer au soleil, la vapeur d'eau exhalée par les cellules vertes forme une buée sur les parties correspondantes du verre, au bout de quelques minutes. Les gouttelettes grossissent vite et se résolvent en gouttes d'eau, faciles à observer. Partout ailleurs, le verre reste sec.

Tous les sulfates, ou les sels de fer solubles employés en

solution très étendue produisent le même résultat que le sulfate d'ammonium ou le nitrate de fer.

En traitant les feuilles chlorotiques par tout autre composé minéral alimentaire que l'élément qui fait défaut à la plante, on n'observe pas de formation de matière verte; par contre, si on veut vérifier la présence d'un composé soluble du fer ou du soufre dans un liquide, il suffit d'en déposer quelques gouttes



FIG. 7.

De gauche à droite :

2 plantes privées de manganèse	3 plantes privées de Mn.
et de zinc.	2 plantes privées de Zn.

sur les feuilles chlorotiques; la plante indique leur présence en formant de la chlorophylle au bout de 3 jours d'insolation.

On sait que les mouches déposent de préférence leurs excréments sur les objets blancs, la nuit tout au moins. Les feuilles chlorotiques se signalent donc à leur attention. Celles qui sont entrées, par hasard, dans la véranda, n'ont pas manqué d'obéir à cette impulsion instinctive. Les petites taches brunes caractéristiques se sont auréolées avec le temps d'une couronne verte très visible.

L'hémoglobine est inactive; les feuilles ne l'absorbent pas.

Les taches de chlorophylle (voir planche IV) obtenues par

le moyen que j'ai indiqué s'étendent peu au delà du cercle formé par le dépôt abandonné par les gouttelettes de solution; le fait est très net avec les sels de fer; mais la démarcation est moins tranchée avec les sulfates; il semble que les cellules végétales retiennent moins bien ces derniers sels; il en résulte que les bords des taches vertes se dégradent et s'estompent en empiétant sur le parenchyme avoisinant.



FIG. 8.

De gauche à droite :

3 plantes témoins  $P \times \frac{1}{2} \text{NO}_3\text{NH}_4$ .

3 plantes même solution, privées de manganèse.

Le soufre et le fer nécessaires aux fonctions générales de la cellule vivante touchent donc de près au mécanisme intime de la fonction spéciale aux végétaux supérieurs puisque, en leur absence, la chlorophylle disparaît entièrement.

S'ils n'entrent pas dans la constitution de la matière verte, ils font vraisemblablement partie des corps chlorophylliens, et c'est surtout cette conclusion qui se dégage des faits que je viens d'exposer.

On doit considérer en effet les chloroleucites comme des

formations protoplasmiques qui se nourrissent des substances qu'elles trouvent dans le suc cellulaire; ils mènent, en quelque sorte, une existence symbiotique; leur activité fonctionnelle dépend donc en premier lieu de l'état physiologique de la cellule; à ce titre, tout élément nécessaire à cette dernière influe nécessairement sur la fonction spéciale des chloroleu- cites; sa suppression entraîne donc une diminution de leur activité et par conséquent une décoloration sensible de la feuille.

Mais le travail d'assimilation carbonique est lié aussi à la présence, dans les corps chlorophylliens, d'éléments nécessaires à sa réalisation; c'est parmi ces derniers que figurent le soufre et le fer.

#### INFLUENCE DU MANGANESE SUR LE DÉVELOPPEMENT DU MAÏS.

M. G. Bertrand a montré que le manganèse est indispensable au développement de l'*Aspergillus niger*; il admet avec un grand nombre d'autres expérimentateurs qu'il est nécessaire également aux végétaux supérieurs.

J'ai cherché de mon côté à vérifier l'emploi que j'en ai fait dans mes liqueurs nutritives.

Mes premiers essais datent de 1910; ils ne m'ont pas donné de résultats; ceux de 1911 ne sont guère plus probants; les figures 4, 5, 6, 7 et 8 donnent une idée du développement du maïs dans la solution  $P\ 1/2\ NO_3^{\cdot}NH_4^{\cdot}$  privée de manganèse. Les deux premiers maïs de la planche XVI, 3<sup>e</sup> mémoire, appartiennent à cette série. Leurs épis ont avorté comme ceux des témoins constitués par la série  $P\ 1/2\ NO_3^{\cdot}NH_4^{\cdot}$  du tableau II, 3<sup>e</sup> mémoire, décembre 1913, t. XXVII.

TABLEAU I.

N <sup>o</sup> s d'ordre.	AGE en jours.	POIDS SEC des plantes en grammes.	POIDS DE L'EAU évaporée par kilogr. de poids sec, en kilogr.
Témoins . . . . .	4	101	68,83
	2	101	46,08
	3	56	19,08
Sans manganèse.	4	101	42,3
	5	101	34,56
	6	56	17,78

Le tableau I donne d'ailleurs les résultats comparatifs des poids des témoins et des plantes privées de manganèse ainsi que les volumes d'eau évaporée par les unes et les autres.

La différence de poids est sensible, comme on le voit; elle suffit jusqu'à un certain point à justifier l'utilité du manganèse; mais ce n'est pas, à mon avis, un résultat satisfaisant; tous les autres éléments envisagés jusqu'ici en ont fourni de plus probants et surlout de plus démonstratifs au point de vue de la spécialisation de leurs fonctions; et l'on peut de même constater sur les photographies 4, 6 et 7 que la privation de zinc que je vais examiner plus loin a des conséquences autrement frappantes.

Mais en 1912 j'ai réussi à obtenir les résultats cherchés.

Ceux des deux années précédentes ont laissé à désirer pour deux raisons.

La première tient en partie sans doute au verre des flacons qui cédait une dose sensible de ce métal à la solution, surtout pendant la stérilisation.

La seconde réside vraisemblablement dans le défaut de pureté des substances minérales utilisées et peut-être aussi de l'eau; je n'avais en effet ni les moyens ni le temps de préparer des quantités aussi considérables d'eau et de sels minéraux purs.

D'un autre côté, l'emploi d'un vernis insoluble, destiné à isoler les parois des flacons, ne présente pas non plus toutes les garanties désirables, car les racines réussissent toujours à trouver les points faibles de l'enduit isolant, et s'il se trouve un endroit où son adhérence n'est pas assez forte, elles passent entre le verre et la membrane de paraffine ou de caoutchouc.

Les réserves d'éléments rares apportées par la graine ne sont pas négligeables non plus; il est donc vraisemblable qu'on pourrait réussir à obtenir, par la suppression du manganèse, des résultats comparables à ceux que m'a donnés la privation de soufre et de fer, si l'on ne considère que le poids sec des plantes.

Cette induction est parfaitement justifiée par la loi des rapports physiologiques étendue à l'eau de végétation. Tous les éléments terreux étant insolubles en présence de carbonate de calcium, la plante les prend suivant ses besoins, dans les conditions normales d'un sol fertile. Théoriquement, il n'y a donc

pas de raison pour que la suppression d'un élément quelconque, indispensable à la plante, ne provoque pas l'arrêt de la végétation au même point de son développement, comme le soufre et le fer.

Mais, pratiquement, ce résultat ne peut être atteint qu'autant que l'élément supprimé est abondant dans la graine. La petite quantité de cet élément qui figure dans la solution comme impureté apportée par les sels minéraux, l'eau ou le verre, est alors négligeable par rapport à celle qui est tenue en réserve dans la semence; on peut négliger par exemple l'azote, le phosphore, le potassium, le magnésium, etc..., qui figurent comme impuretés dans une solution nutritive où on a supprimé l'un de ces éléments, si on met cette impureté en regard de la réserve disponible dans la graine.

Mais s'il s'agit d'un corps tel que le fer, le manganèse ou le zinc, l'impureté compte vis-à-vis de la réserve; il faudra donc prendre beaucoup de précautions pour atteindre le point théorique de l'arrêt de la végétation par la suppression des éléments rares ou catalytiques.

Les résultats que j'ai obtenus en 1912 approchent cette limite; mais les plantes atteignent encore un poids sec moyen voisin de 12 grammes. C'est un chiffre élevé, comme on le voit, et la disette de manganèse se fait sentir bien plus tard, relativement, que le manque de fer ou de soufre.

Les expériences de 1912 ont été faites avec les flacons qui avaient servi dans les mêmes conditions les années précédentes. Les décapages successifs qu'ils avaient subis par la stérilisation à l'autoclave, leur avaient fait perdre une grande partie des éléments qu'ils pouvaient céder aux solutions.

J'avais fait faire en outre quelques flacons en verre de Bohême de 4-5 litres de capacité, qui, après un décapage par l'eau acidulée portée une heure à 120 degrés, m'ont donné des résultats aussi probants que les anciens flacons.

La solution qui a servi pour ces expériences est la solution  $P\frac{1}{2}NO^3NH^4$ .

Les plantes ont présenté dès les premières semaines un retard marqué sur les témoins, qui n'étaient autres, en 1912, que les plantes dont j'ai donné l'histoire dans le troisième mémoire, tableau III.

L'aspect des feuilles devient caractéristique au bout de quinze jours ; elles sont étroites, longues, peu largescentes et tombantes. Les deux bords du limbe sont régulièrement ondulés.

La couleur verte, moins foncée que chez les plantes témoins, s'atténue à mesure que le nombre de feuilles augmente.

L'épuisement complet du manganèse peut être considéré comme certain quand la sudation nocturne cesse.

A partir de ce moment, les feuilles diminuent de surface et de longueur ; la végétation devient languissante ; c'est le même ralentissement que celui qui a été observé chez les plantes privées de soufre et de fer. On observe également une reprise de l'activité végétative à la suite du dépérissement des feuilles inférieures et pour les mêmes raisons que celles que j'ai données à la page 31.

La plante parvenue au terme de la végétation présente un port qui rappelle une petite tige de bambou, surtout par la forme des feuilles supérieures. Pas de fleurs mâles fécondes, mais une petite ébauche d'épi femelle à l'aisselle d'une feuille.

A aucun moment, les feuilles n'ont été privées de chlorophylle.

Malgré cela, la plante est atteinte d'une chlorose visible dont l'étude m'a révélé des faits aussi intéressants qu'imprévus.

Si l'on dépose sur les feuilles formées après la disparition de la sudation nocturne une goutte de liquide exhalé par les feuilles de maïs qui végètent dans une solution complète, il se forme à l'emplacement de la goutte, au bout de vingt-quatre heures d'insolation, une tache verte due à la production de chlorophylle.

La tache prend une teinte très foncée au bout de quelques jours, et gagne de proche en proche les cellules voisines. L'empilement se fait surtout dans le sens de la sève ascendante, c'est-à-dire vers l'extrémité de la feuille. Les taches s'étalent en coup de pinceau en suivant les faisceaux vasculaires.

Elles durent aussi longtemps que les feuilles elles-mêmes, et grandissent jusqu'à leur dépérissement. Celles qui sont représentées dans la planche IV, sur les deux feuilles de droite, ont été obtenues par le moyen que je viens d'indiquer.

Mais, contrairement à ce qui se passe pour les chloroses sulfureuse et ferrique, les sels solubles de manganèse sont sans

action sur les feuilles rendues chlorotiques par privation de manganèse.

L'xsudat de maïs exerce sur la chlorose manganique une action spécifique; l'xsudat de chou, de millet, de pavot ne produit rien de semblable, bien qu'il contienne vraisemblablement du manganèse.

Si l'on décolore des feuilles de maïs normal par un mélange à volume égal d'éther et d'alcool, qu'on dessèche, qu'on réduise en poudre les feuilles traitées, et qu'on en fasse une macération à froid dans l'eau distillée pendant deux ou trois heures, le liquide ainsi obtenu agit exactement comme l'xsudat. Les macérations préparées de la même manière avec des feuilles d'autres espèces végétales sont inactives.

Le maïs renferme donc une substance spécifique capable de guérir la chlorose manganique; cette substance résiste à un chauffage de quelques minutes à 100 degrés; elle est soluble dans l'alcool et insoluble dans l'éther; elle est de nature organique, car les cendres de l'extrait d'xsudat ou de macération de feuilles sont inactives, de même que la solution minérale complète qui convient le mieux au développement du maïs.

L'allure envahissante des taches vertes formées par l'xsudat s'explique dès lors très facilement. Les cellules malades, guéries par cette méthode imprévue « d'opothérapie », reprennent toute leur activité et deviennent capables de produire la substance spécifique; comme sa formation dépasse les besoins de la cellule normale, elle se diffuse dans la sève, qui la porte aux cellules voisines en empruntant de préférence la voie vasculaire. La propagation des taches dans le sens de la circulation de la sève ascendante est donc tout à fait logique.

Les cellules guéries reprennent toute leur activité fonctionnelle; on peut le constater par l'intensité de la transpiration.

Plus que la réduction du poids des plantes privées de manganèse, cette réaction physiologique met en évidence l'utilité du manganèse pour les végétaux supérieurs; elle démontre pour la première fois la formation chez les végétaux de composés organiques doués de propriétés physiologiques spéciales. On peut les rapprocher des substances spécifiques sécrétées par les glandes ou les tissus animaux en vue des fonctions permanentes ou intermittentes, tels les composés élaborés par les

capsules surrénales, le thymus, le corps pituitaire, le placenta, etc.

Il est vraisemblable que ces substances spécifiques interviennent dans bon nombre de phénomènes physiologiques, et je ne serais pas surpris de constater que les affinités des espèces relèvent de leur présence, que les rapports du greffon avec le sujet en dépendent.

Les exsudats de maïs panaché qui ont été filtrés par les tissus décolorés sont actifs au même titre que les exsudats de feuilles normales; les cellules privées de corps chlorophylliens ne fixent pas la substance en question.

Son influence s'exerce donc sur l'assimilation carbonique, et en cela elle collabore avec le soufre et le fer à la fonction assimilatrice des corps chlorophylliens.

Il est possible qu'elle renferme du manganèse; mais il est plus vraisemblable que ce dernier, nécessaire à la cellule considérée dans ses fonctions générales, favorise, comme tous les éléments qui lui sont indispensables, l'élaboration de la substance visée, puisque le manganèse minéral est sans influence sur les corps chlorophylliens.

#### INFLUENCE DU ZINC SUR LE DÉVELOPPEMENT DU MAÏS.

Le rôle du zinc chez les végétaux supérieurs a été étudié par M. Javillier; il a déduit de ses expériences que ce corps doit figurer au nombre des éléments indispensables aux plantes vertes (1).

J'ai examiné son action sur le maïs parallèlement à celle du manganèse, en utilisant la solution  $P \times 1/2 \text{NO}_2\text{NH}_4$ ; les résultats que j'ai obtenus sont devenus plus probants d'année en année, comme ceux qui découlent de l'étude du manganèse, mais plus vite que ces derniers, comme le prouve la photographie (fig. 5) qui est du 3 juin 1911.

Les résultats de 1910 ne sont pas concluants. J'ai noté simplement la formation d'un dépôt léger, de couleur rouille, sur les racines. Le même symptôme s'est manifesté en 1911, avec une intensité moindre; il a fait défaut en 1912, où j'ai réussi à

(1) *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XXII, p. 720.

obtenir des résultats voisins de ceux que la théorie permet de prévoir. Les cendres des racines qui portent un dépôt ocreux renferment des sulfures. La présence de sulfure dans les cendres est corrélative de la privation de zinc; c'est un résultat que je n'ai pas observé dans d'autres circonstances (1). Mais ce caractère disparaît lorsque la privation de zinc est à peu près complète. Dans ces conditions, la plante meurt en quelques jours, après l'apparition des premiers troubles de végétation. Lorsque la dose de zinc, insuffisante, mais relativement élevée, permet à la plante de se développer, elle se défend; et la formation de corps sulfurés en abondance apparaît comme une phase d'une intoxication lente: quand celle-ci est brutale, les corps sulfurés manquent.

L'aspect de la végétation change suivant l'importance de la dose de zinc qui reste comme impureté dans les solutions nutritives. Les résultats de 1910 ne présentent rien de particulier du côté des organes aériens. Ceux de 1911 (fig. 4, 5, 6 et 7) montrent que la tige principale meurt assez vite; quelques bourgeons axillaires partent de la base des feuilles inférieures, donnent naissance à des tiges secondaires qui périssent avant d'avoir atteint le développement de l'axe principal. Les plantes de la figure 4 présentent ces caractères; elles étaient mortes au moment où on les a photographiées.

Les résultats de 1912 sont plus caractéristiques. La végétation débute normalement; les plantes ne présentent aucune différence avec les témoins. Puis, brusquement, la couleur des feuilles se fonce et prend un reflet métallique; la sudation nocturne devient très abondante; elle laisse un dépôt visiblement anormal. On trouve dans ce dépôt tous les sels solubles de la solution nutritive.

Ce symptôme précède la mort de la plante de trois à cinq jours; il est évident qu'elle a été tuée par intoxication; autant qu'on peut interpréter son mécanisme, il est possible d'avancer que l'intoxication débute par la région des poils absorbants; on constate en effet que la plante ne peut plus régler l'absorption des éléments de la solution; les organes aériens deviennent de

(1) Les mêmes caractères s'observent lorsqu'on supprime en même temps le manganèse et le zinc (photographies 4, 5 et 6). On peut même constater que la suppression de ces deux corps précipite la mort des plantes.

simples agents d'évaporation et périssent par incrustation. Les feuilles se dessèchent par places, et en deux ou trois jours la plante entière se fane.

Trois séries successives de plantes mises en expérience en 1912 ont présenté ces caractères avec une concordance parfaite. La première série, commencée le 16 avril, prenait fin avec la mort des plantes, le 25 mai; la seconde a duré du 13 mai au 26 juin; la troisième, du 14 juin au 20 juillet.

J'ai réuni dans le tableau II quelques renseignements relatifs aux plantes de la seconde série.

TABLEAU II.

Numéros d'ordre . . . . .	1	2	3	4
Poids sec des plantes en grammes.	3,600	3,272	3,797	5,610 (1)
Cendres p. 100 .	Feuilles. . . . .	20,15	17 »	19,45
	Tiges. . . . .	12,53	11,95	12,04
	Racines. . . . .	16,85	14,08	16,92
Alcalinité des cendres en NaOH p. 100.	Feuilles. . . . .	5,57	6,06	3,87
	Tiges. . . . .	14,24	12,97	9,31
	Racines. . . . .	8,81	10,34	7,21
				8,58

On voit que la richesse des feuilles en matières minérales atteint un chiffre anormal. On ne peut pas l'attribuer au phénomène d'autophagie ordinaire, qui augmente la proportion relative des cendres dans les feuilles dont la mort est due à l'âge ou à une alimentation insuffisante. (V. 2<sup>e</sup> mémoire, p. 659.)

Les feuilles des plantes privées de zinc se sont incrustées par évaporation, puisque les tiges qui ne sont pas soumises à une transpiration aussi active conservent une teneur normale en matières minérales.

L'alcalinité des cendres ne correspond pas non plus à celle que l'on observe chez les organes aériens des plantes qui se sont développées dans les solutions complètes pourvues de zinc.

L'eau d'exsudation éliminée en abondance, à l'obscurité, déposée sur les feuilles de plantes normales, est sans action sur la couleur du parenchyme. L'exsudat des feuilles normales n'exerce non plus aucun effet sur les feuilles des maïs privés de zinc..

(1) Les n<sup>o</sup>s 1 et 2 ont végété dans des flacons en verre vert ayant déjà servi plusieurs fois pour des cultures en solution privée de zinc; les n<sup>o</sup>s 3 et 4 étaient placés dans des flacons neufs en verre de Bohême.

Le rôle du zinc revêt donc un caractère spécial ; aliment de la cellule, il semble que son action physiologique soit liée aux migrations du soufre.

C'est un côté particulier du rôle des éléments rares dont l'explication n'échappera pas, je pense, à la méthode de recherches que j'utilise :

EXISTE-T-IL D'AUTRES ÉLÉMENTS MINÉRAUX NÉCESSAIRES  
AU DÉVELOPPEMENT DU MAÏS?

J'ai annoncé au début de ce mémoire que la solution nutritive utilisée n'est pas suffisante pour assurer le développement complet du maïs, lorsqu'on fait usage de produits purs et d'eau distillée chimiquement pure.

Les plantes cultivées dans la solution  $P \times 1$   $\text{NO}_3\text{NH}_4$ , préparée dans ces conditions, se développent jusqu'à la floraison comme celles qui sont alimentées par la même solution faite avec de l'eau de source ; mais leur évolution s'arrête assez brusquement dès que l'épi mâle commence à se dégager de la gaine de la dernière feuille. Le phénomène de la transpiration diurne, jusque-là très actif, s'arrête aussi. La plante reste stationnaire pendant quelques jours sans modification apparente, puis les feuilles se dessèchent par places et la plante pérît. La plante la plus développée de la figure 2 (p. 26), appartient à une série de maïs cultivés dans le but de suivre la végétation dans les conditions que je viens de définir.

On peut constater que l'épi mâle n'est pas entièrement dégagé ; tous les épillets sont garnis d'enveloppes florales ; mais les étamines ne se sont pas formées.

Les fleurs femelles, dont l'évolution a très bien commencé en apparence, sont représentées uniquement par les feuilles ou bractées qui enveloppent l'inflorescence, et on constate sur une coupe longitudinale que l'épi se résout en pousse feuillée.

Cette plante est dans un état de dépérissement avancé, les feuilles sont desséchées en partie.

L'excédent des plantes normales, les solutions diluées au 1/10.000 de fluorure de sodium, de borate de sodium, de sulfate d'alumine, d'iodure de potassium, etc., déposés en gouttelettes sur le limbe des feuilles saines, n'ont aucune action sur leur

couleur. Le fluorure de sodium détruit cependant les cellules sur une étendue de parenchyme correspondant à la largeur de la goutte de solution et s'étendant de l'endroit où elle a été déposée jusqu'à l'extrémité de la feuille.

Il résulte de ces faits que la solution ne renferme pas tous les éléments nécessaires au développement du maïs, et celui ou ceux qui font défaut semblent exercer une influence qui rappelle jusqu'à un certain point celle que j'ai attribuée au zinc.

La recherche des éléments complémentaires de la solution est une question qui doit aboutir sans peine à des résultats positifs.

#### AUTRES CHLOROSSES EXPÉRIMENTALES DU MAÏS.

Si l'on transporte des plantules de maïs obtenues par germination en présence d'eau distillée et à l'abri des microbes, dans des solutions pourvues d'un seul composé minéral alimentaire, on observe, entre autres faits intéressants, une chlorose très prononcée, qui se déclare au bout de deux ou trois semaines de végétation.

Pour suivre l'influence des divers sels minéraux susceptibles d'être employés comme aliments des plantes et même comme engrais chimiques, je les ai utilisés à la concentration de 1 p. 1.000 et de 0,5 p. 1.000 dans l'eau distillée pure ; les solutions étaient réparties dans des flacons de 2 litres.

Les nitrates, phosphates, sulfates et chlorures de potassium, de sodium et de calcium peuvent être employés indifféremment à la concentration de 1 ou de 0,5 p. 1.000 ; les sels ammoniacaux des mêmes acides ne sont pas tolérés au delà de 0,5 p. 1.000 au début.

La végétation évolue au début dans toutes les solutions ainsi constituées exactement comme dans l'eau distillée considérée comme milieu témoin.

Mais au bout de quinze jours environ, on constate la décoloration progressive des feuilles qui se forment par la suite.

La décoloration est plus rapide en présence des nitrates ; ce sont généralement les nitrates de potassium et de calcium

qui devancent le nitrate d'ammonium et de sodium ; les sulfates et les chlorures sont moins rapides dans leurs effets, les phosphates viennent enfin avec une action plus lente et moins complète.

Les plantes qui végètent dans l'eau distillée ne se décolorent pas, même au bout de trois et quatre mois.

La chlorose observée dans ces conditions est due au manque de fer, car des gouttes d'azotate de fer en solution à 0,2 et 0,1 p. 1.000 provoquent la formation de la chlorophylle au bout de trois à quatre jours, à l'endroit où on les a déposées sur les feuilles décolorées. (V. planche IV, feuilles de gauche.)

Le fer a donc été soustrait à la plante par la solution incomplète, ce qui n'a rien d'étonnant ; il est certain, en effet, que la réserve de fer de la graine est assez grande pour alimenter un poids de plantes qui atteint plusieurs fois le poids de la graine. C'est ainsi que les choses se passent lorsque le maïs est placé dans une solution complète privée de fer ; la chlorose apparaît lorsque la plante a atteint un poids sec voisin de 3 grammes.

Dans les solutions incomplètes, le poids des plantules les plus lourdes ne dépasse pas sensiblement celui de la graine ; ce sont celles qui végètent dans le nitrate de potassium et de calcium, qui atteignent les poids les plus élevés, en raison du développement énorme que prennent les racines (2 m. 20 en présence du nitrate de calcium).

Ce développement dépasse de beaucoup celui que l'on observe dans l'eau distillée, bien que la plantule y reste constamment verte.

Les sels ammoniacaux restreignent aussi, comme dans les solutions complètes, la surface du système radiculaire.

Ces observations prouvent que la réserve azotée de la graine peut être complétée avantageusement par le nitrate de calcium de préférence. C'est une indication pratique assez intéressante, surtout si l'on songe qu'une légère dose de nitrate de calcium donnée au moment des semaines favorise en même temps l'allongement des racines et permet à la plante d'explorer un volume de terre bien plus élevé.

**ÉTUDE DE LA CHLOROSE DES VÉGÉTAUX SUPÉRIEURS  
ATTRIBUÉE A LA RICHESSE EXCESSIVE DES SOLS EN CALCAIRE**

En collaboration avec M. RUOT et M. LEMOIGNE.

Les terrains calcaires ne conviennent pas à la culture d'un grand nombre d'espèces végétales, et, d'une manière générale, ces sols sont peu favorables à la culture intensive pour des raisons qu'on a mises en lumière, 2<sup>e</sup> mémoire, p. 678.

On connaît l'allure de la végétation chez des plantes calcifuges qu'on cherche à acclimater aux terrains riches en calcaire.

Parmi les plantes annuelles, c'est le lupin blanc qui offre le plus de résistance à cette accoutumance. Sa germination s'accomplice cependant à peu près régulièrement, et les premières feuilles qui se forment aux dépens des réserves séminales ne présentent rien d'anormal; mais quand la plantule a épuisé ces réserves, la végétation devient languissante; la plante pérît avant d'avoir formé quelques fleurs. Le calcaire serait donc toxique vis-à-vis des plantes calcifuges.

La reconstitution d'une grande partie du vignoble français, à la suite du désastre causé par l'invasion phylloxérique, s'est heurtée à des obstacles de même nature.

Les cépages américains utilisés comme porte-greffes ou comme producteurs directs ne pouvaient pas prospérer en terrain calcaire; ils périssaient plus ou moins vite après avoir présenté les symptômes d'une chlorose intense.

Le mal ne pouvait être attribué qu'à l'absorption d'un excès de calcaire, et, ce qui le prouvait, c'est que les pousses et les feuilles chlorotiques étaient remplies de cristaux d'oxalate de calcium.

Cependant cette interprétation ne cadre pas avec d'autres faits d'observation courante.

Le sulfate de fer en cristaux, déposé au pied des ceps, prévient fréquemment la chlorose, mais seulement pendant un temps limité; il la fait disparaître plus sûrement si on l'introduit directement dans les tissus de la plante en badigeonnant

les sections des sarments au moment de la taille d'hiver avec une solution de sulfate de fer.

Entre la cause présumée du mal et le remède certain, les relations ne sont pas évidentes.

L'analyse des sols a montré aussi qu'il n'existe pas un rapport constant entre leur richesse en calcaire et leur aptitude à provoquer la chlorose. Il y a donc calcaire et calcaire. On a expliqué ces divergences par l'état de division plus ou moins grande des éléments du sol.

Nous n'insisterons pas sur ces interprétations, dans lesquelles on peut découvrir une part de vérité comme il s'en rencontre dans toutes celles qui doivent se borner à rapprocher les faits, faute de pouvoir en saisir la liaison.

On conçoit qu'après tout ce que l'un de nous a établi avec le concours d'une méthode souple et rigoureuse, nous pouvons aborder l'étude du rôle du calcaire dans la production de la chlorose, en tirant parti des faits acquis et des moyens de diagnostic des différentes chloroses végétales expérimentales ou naturelles.

Nous avons donc entrepris des recherches sur plusieurs espèces végétales simultanément, afin de mieux saisir les réactions spécifiques des plantes soumises aux mêmes conditions atmosphériques.

#### LE MAÏS RÉSISTE À LA CHLOROSE « CALCAIRE ».

Si la richesse excessive de la sève en composés calciques est une cause de chlorose, il est facile de la provoquer chez une plante quelconque cultivée en solution minérale aseptique.

Il suffit de pousser jusqu'à la limite compatible avec le développement de la plante, la concentration de la liqueur nutritive en composés solubles du calcium.

Nous avons adopté pour le maïs la solution suivante :

Nitrate de calcium. . . . .	4 "
Phosphate de potassium neutre à la phénolphthaléine. . . . .	0,5
Sulfate de magnésium. . . . .	0,1
Sulfate ferreux. . . . .	0,05
Sulfate de zinc. . . . .	0,01
Chlorure de manganèse. . . . .	0,01
Silicate de potassium. . . . .	0,01
Carbonate de calcium. . . . .	2 "
Eau de source. . . . .	1.000

Cette solution a été additionnée en outre de chlorure de calcium de façon à constituer quatre milieux nutritifs différents, pourvus respectivement de 0,5, 1, 1,5 et 2 p. 1.000 de  $\text{CaCl}_2$ . Comme plantes témoins, nous disposions des séries cultivées simultanément en 1912, dans les solutions de concentration variable en vue de la fructification. (Voir 3<sup>e</sup> mémoire, décembre 1913.)

Mises en flacon le 1<sup>er</sup> avril 1912, les plantes présentent dès les premiers jours un retard visible sur la série  $\text{P} \times 1/2 \text{NO}_3\text{NH}_4$ , du 2 avril 1912.

Mais, fait inattendu, on ne note pas de différence sensible entre les divers lots de plantes qui ont reçu des doses variables de chlorure de calcium.

La photographie (Pl. I) prise le 9 mai montre l'état de la végétation comparée à un témoin,  $\text{P} \times 1/2 \text{NO}_3\text{NH}_4$ .

Les organes aériens sont moins colorés que chez les témoins ; par contre, les racines sont sensiblement plus développées.

Un caractère commun aux maïs placés dans les solutions calciques, c'est la coloration rouge violacée des gaines, de la tige et même des racines ; sur celles-ci, le détail est visible dans la photographie ; cette teinte indique l'alcalinisation progressive de la liqueur nutritive.

La photographie (Pl. II) du système radiculaire de deux plantes met en évidence un détail intéressant.

On peut constater que les racines manifestent une chimiotaxie négative pour le dépôt insoluble du fond, constitué par du carbonate et du phosphate de calcium.

Malgré cela, elles absorbent assez de fer pour conserver leur couleur verte. Celles qui parviennent jusqu'au dépôt en retiennent, par adhérence, des particules qu'elles entraînent vers la surface du liquide où elles viennent se ranger. C'est dans l'extrait insoluble ainsi suspendu que les poils absorbants puisent les petites quantités de fer et d'oxydes rares nécessaires à la plante.

Quand toute la place disponible est prise par les racines, les dernières formées se développent nécessairement dans la masse du dépôt ; mais la chimiotaxie négative se traduit alors d'une autre façon ; les ramifications des axes principaux s'orientent vers la surface du liquide et s'allongent dans ce sens.

Le calcium soluble étant déjà trop abondant, les racines fuient les régions où elles trouvent encore un surcroît de calcaire.

On voit donc que les racines trahissent toujours mieux que les organes aériens les défauts des solutions nutritives, quelle qu'en soit la nature.

Du côté des organes aériens, on n'observe pas de chlorose; la végétation progresse lentement et semble s'arrêter; mais elle reprend son évolution à partir du jour où on donne des solutions d'entretien; les épis mâles fournissent une pollinisation abondante; les épis femelles émettent des panaches de stigmates bien développés.

Une plante a formé 7 graines; elle appartient au lot qui a reçu 0,5 p. 1.000 de chlorure de calcium (n° 4 du tableau III).

Deux faits indiquent que la végétation a été gênée: la chute précoce des feuilles inférieures et le développement exagéré du système radiculaire. Ce sont là des symptômes qui trahissent une disette d'un ou de plusieurs éléments nécessaires à la plante. Nous sommes en mesure d'affirmer (3<sup>e</sup> mémoire) que l'eau est un de ces éléments; la richesse exagérée des solutions en sels de calcium solubles justifie cette assertion; nous pouvons ajouter que les éléments rares sont difficilement absorbables, comme on le verra plus loin, pour les mêmes raisons, aggravées encore par la présence du carbonate de calcium. Le tableau III montre jusqu'à quel point le calcium soluble a nui à la végétation.

TABLEAU III.

CONCENTRATION des solutions en $\text{CaCO}_3$ .	N <sup>o</sup> s d'ordre.	POIDS SEC des plantes en gr.	POIDS SEC des racines en gr.	POTRS des racines rapporté à 100 parties de plantes.
0,5 p. 1000. . .	4	39,977	12,061	30,2
1 . . . . .	2	27,528	7,804	28,3
	3	28,720	8,703	30 "
1,5 . . . . .	4	35,683	10,453	29,3
	5	18,628	4,730	25,4
2 . . . . .	6	26,453	8,787	34,3
	7	30,467	9,743	32,3

Comme on le voit, le poids du n° 4 est le plus élevé; dans les autres lots, les écarts ne sont pas en rapport avec la concentration de la solution nutritive en  $\text{CaCl}_2$ ; les plantes atteignent

sensiblement le même poids ; le maïs présente donc une tolérance très grande pour des éléments très répandus dans le sol, et en absorbe des quantités bien supérieures à celles qu'il utilise réellement ; l'analyse des cendres montre que le chlore représente 45 p. 100 du poids des cendres de la tige, la chaux atteint le chiffre de 40 p. 100 des cendres des feuilles, l'acide oxalique est abondant dans les tiges ; cette teneur anormale en chlore et en chaux ralentit nécessairement le développement de la plante et diminue le poids de matière végétale ; on pouvait escampter *a priori* l'arrêt de la végétation par la concentration des solutions nutritives en chlorure de calcium ; c'est bien le résultat qu'on aurait observé si on n'avait pas introduit dans les flacons des solutions d'entretien qui ont dilué la liqueur résiduelle ; ces solutions avaient la même richesse en calcium soluble que les liqueurs nutritives correspondantes.

#### CHLOROSE « CALCAIRE » DU LUPIN BLANC (*Lupinus albus*).

Le lupin blanc est la plante calcifuge par excellence ; il est très sensible à la chlorose « calcaire ». Nous l'avons donc utilisé d'abord de préférence à toute autre espèce végétale ; malheureusement, le lupin blanc se développe très mal dans les solutions minérales ; il ne réussit pas mieux lorsqu'on le cultive dans du sable blanc de Fontainebleau, imbibé d'une liqueur nutritive. Nous ne connaissons pas encore la composition d'un milieu artificiel qui conviendrait à la culture de cette plante ; et comme sa recherche exigera quelques années de travail, nous nous sommes bornés à faire quelques observations provisoires qui nous ont montré que le lupin ne devient chlorotique qu'en présence de carbonate de calcium. Les sels de calcium solubles, et par conséquent absorbables, ne produisent pas de chlorose ; c'est donc le calcaire qui semble être l'agent plus ou moins médiat de cette maladie physiologique. Comme le lupin ne nous permettait pas de formuler de conclusions définitives, nous nous sommes adressés à la vesce de Narbonne (*Viscia narbonensis*).

CHLOROSE « CALCAIRE » DE LA VESCE DE NARBONNE  
(*Viscia narbonensis*).

Cette plante se développe bien dans les solutions minérales que nous avons préparées en vue de nos recherches; son évolution rapide et luxuriante va jusqu'à la production de fleurs et de fruits; nous devons cependant ajouter que la concentration de la liqueur nutritive lui devient fatale à bref délai; la plante ne meurt pas; mais son développement s'arrête; l'apparition de ce moment critique se signale par l'aspect du bourgeon terminal qui dégénère en « tête de chou », dont les feuilles gaufrées et recroquevillées restent stationnaires pendant des semaines. L'accident est d'autant plus précoce que le volume initial de la solution nutritive est plus réduit; quand on emploie des flacons de 2 litres de capacité, la plante peut former des fleurs et des gousses normales avant l'arrêt de la végétation. Si on dilue la liqueur résiduelle avec de l'eau distillée, la végétation ne reprend pas son activité; il s'agit donc en réalité d'un défaut de constitution de la solution nutritive dû à l'absence d'un élément indispensable à la plante ou, plus vraisemblablement, à la non-observation de la loi des rapports physiologiques, car l'accident se produit aussi lorsque la solution est préparée avec de l'eau de source (1).

La solution nutritive que nous avons employée possède la composition suivante:

Nitrate de calcium. . . . .	1 "
Phosphate de potassium ramené au voisinage de la neutralité à la phénolphtaléine. . . . .	0,250
Sulfate d'ammonium. . . . .	0,2
Sulfate de magnésium. . . . .	0,05
Sulfate ferreux. . . . .	0,025
Chlorure de calcium. . . . .	0,05
Sulfate de potassium. . . . .	0,025
Sulfate d'aluminium. . . . .	0,025
Chlorure de manganèse. . . . .	0,05
Chlorure de zinc. . . . .	traces
Eau de source. . . . .	1,000

(1) Nous n'avons jusqu'ici aucune raison d'attribuer l'arrêt brusque de la végétation à l'accumulation de produits toxiques excrétés par les racines.

Dans ce milieu ~~précisément~~ stérilisé à ~~100%~~ atteignent un poids sec de 3 grammes. Quelques pieds produisent des graines qui ne parviennent pas à la maturation par suite de l'arrêt brusque de la végétation ; mais la chlorose que nous cherchons à provoquer se déclare toujours bien avant que cet accident ne survienne.

L'influence du carbonate de calcium dans la production de la chlorose est encore décisive. Dans les solutions privées de carbonate, la vesce de Narbonne ne devient jamais chlorotique ; la décoloration des feuilles s'observe régulièrement en présence de carbonate de calcium. Les plantes malades perdent leurs feuilles inférieures ; les témoins les conservent jusqu'à la fin de l'expérience.

Pour déterminer la nature de la chlorose, nous avons eu recours au procédé ordinaire, qui consiste, on se le rappelle, à déposer des gouttes de sulfate d'ammonium ou de nitrate de fer à 0,1 p. 1000 sur les feuilles décolorées. Le fer seul fait reverdir le parenchyme à l'endroit où la goutte a abandonné des traces de fer, en s'évaporant.

Deux séries de cultures faites avec la vesce au cours du printemps et de l'été de 1912 nous ont donné des résultats concordants.

Nous avons étendu nos observations au carbonate de magnésium, qui provoque les mêmes accidents que le carbonate de calcium ; il en est de même du carbonate de baryum ; mais nous n'avons pas fait le départ entre la toxicité de ce dernier pour la vesce et son action purement chimique ; pour cette raison, nous ne tiendrons pas compte des résultats qu'il nous a fournis.

La conclusion qui se dégage de ces faits est simple : le carbonate de calcium rend la vesce chlorotique en la privant de fer.

Dans une solution pourvue de carbonate de calcium ou de magnésium, le fer est insolubilisé ; le maïs est capable de le dissoudre et de l'absorber, la vesce ne peut pas l'incorporer sous cet état ; il est légitime de mettre ce résultat sur le compte des sécrétions des racines ; celles du maïs restent acides et dissolvent le fer à l'endroit précis où il doit être assimilé ; si la vesce devient chlorotique, c'est que ces sécrétions radiculaires sont alcalines.

Ces faits prouvent en outre que l'absorption d'un excès de calcaire par la plante n'est pas la cause de la chlorose; dans les solutions privées de carbonate, le calcium soluble est aussi abondant que dans celles qui en sont pourvues; l'analyse permettra facilement de vérifier la richesse des deux séries de plantes en calcium.

Notre but pour le moment est de définir les conditions, les causes et la nature de la chlorose calcaire.

Le lupin, plante calcifuge, ne nous a pas permis de pousser assez loin notre démonstration; c'est la vesce, plante calcicole, qui nous permet d'aboutir au résultat; le fait peut paraître surprenant, si l'on ne remarque pas que les conditions imposées à la plante sont plus sévères que celles que réalisent les sols les plus riches en calcaires.

La solution est saturée de bicarbonate de calcium; elle renferme plus de nitrate, de chlorure et de sulfate de calcium que les sols crayeux, dont les eaux d'imbibition sont peu riches en sels solubles de calcium, le bicarbonate mis à part.

#### CHLOROSE CALCAIRE DU POIS (*Pisum sativum*). INFLUENCE DES EXCRÉTIONS DES RACINES SUR L'ABSORPTION DU FER EN PRÉSENCE DU CARBONATE DE CALCIUM.

Nous avons attribué aux excrétions des racines une influence prépondérante dans « l'étiologie » de la chlorose calcaire; rien n'est plus aisé que d'en donner la preuve expérimentale.

Pour cela, nous avons utilisé la vesce et le pois (variété *caractacus*). Il convient donc d'exposer tout d'abord les conditions dans lesquelles ce dernier devient chlorotique.

Nous l'avons cultivé dans les solutions nutritives suivantes, en flacons de 2 litres.

La solution II est celle que E. Laurent a utilisée pour la culture du pois diluée à 1/2 (1).

Additionnées de carbonate de calcium à 2 p. 1.000, ces solutions devaient produire la chlorose des pois conformément aux observations que nous avons faites sur la vesce et le lupin; les solu-

(1) *Annales de l'Institut Pasteur*, t. V, p. 105.

tions privées de carbonate constituaient ainsi des milieux témoins.

	I	II	III	IV
Nitrate de calcium . . . . .	0,5	0,5	0,5	0,5
Phosphate de potassium (1) . .	0,125	"	"	0,25
Sulfate d'ammonium . . . . .	0,40	"	0,4	0,2
Sulfate de magnésium . . . . .	0,025	0,25	0,2	0,1
Sulfate ferreux . . . . .	0,0125	0,005	0,1025	0,025
Chlorure de calcium . . . . .	0,05	"	0,4	0,1
Silicate de potassium . . . . .	0,0125	"	"	0,025
Sulfate d'aluminium . . . . .	0,0125	"	"	"
Chlorure de manganèse . . . . .	0,0125	"	0,025	0,025
Chlorure de zinc . . . . .	traces	"	"	traces
Eau de source . . . . .	1.000	1.000	1.000	1.000
Sulfate de potassium . . . . .	"	0,25	0,2	"
Sulfate de calcium . . . . .	"	0,25	"	"
Phosphate tricalcique . . . . .	"	0,25	0,5	"
Chlorure de sodium . . . . .	"	0,25	"	"

Mais les résultats n'ont pas été conformes à nos prévisions; la chlorose a sévi sur tous les lots de plantes. Celles qui étaient alimentées par la solution II ont présenté les symptômes de la chlorose avec un retard de cinq jours sur les autres; et leurs feuilles n'ont pas été aussi complètement décolorées.

Le carbonate de calcium hâte l'apparition de la maladie de un à dix jours; en sa présence la chlorose est plus intense; la mort de la plante survient plus tôt.

Nos cultures, faites sous un abri vitré ouvert sur les quatre faces, ont été favorisées par le beau temps. Commencées le 8 août 1913, elles se sont poursuivies jusqu'à la dernière quinzaine de septembre.

Les conditions atmosphériques exercent une influence très grande sur la marche de la maladie. Plus la végétation est rapide, plus vite elle apparaît.

Dans nos derniers essais, les premiers symptômes se sont montrés le dixième jour qui a suivi la mise en flacons. Peu de temps après, les premières fleurs se sont formées; toutes les plantes ont fleuri, bien que les feuilles fussent entièrement décolorées; les quatre ou cinq premières feuilles normales et

(1) Le phosphate de potassium est ramené à une réaction faiblement acide à la phénolphthaleïne.

très vertes suffisaient à l'entretien des organes chlorotiques.

Les racines permettent de prévoir l'éclosion de la maladie deux ou trois jours avant qu'elle ne se manifeste du côté des organes aériens. Elles prennent une teinte rosée qui affecte aussi la solution. Cette teinte s'accentue avec les progrès du mal ; le même symptôme s'observe chez la vesce. A partir du moment où la chlorose peut être considérée comme définitive, les racines cessent de s'allonger.

Les organes aériens se développent plus longtemps ; mais les feuilles se réduisent de plus en plus ; la végétation s'arrête, et quelques jours après les plantes périssent.

Nous avons vérifié l'efficacité de l'azotate de fer comme remède à la maladie, aussi bien sur les plantes qui végétaient dans les solutions privées de carbonate de calcium, que sur celles qui se développaient dans les milieux additionnés de carbonate.

Le sulfate d'ammonium reste dans tous les cas sans action sur la maladie ; les solutions sont en effet très riches en sulfates.

La généralisation de la chlorose chez les plantes qui sont cultivées dans les solutions privées de carbonate de calcium est un fait qui doit être discuté.

Nous avons constaté en effet que le lupin blanc et la vesce ne deviennent chlorotiques qu'en présence de carbonate de calcium ; les nitrate et chlorure de calcium sont inoffensifs. La conclusion ne s'accorde plus avec les faits observés sur le pois, du moins en apparence.

Il semble pourtant que les excréptions radiculaires du pois possèdent la propriété d'insolubiliser le fer, puisque la chlorose est due à la pénurie de fer ; et, d'autre part, les symptômes relevés du côté de l'appareil radiculaire sont communs à toutes les plantes malades.

Il est donc vraisemblable que la chaux absorbée à l'état de nitrate est éliminée dans la région des poils absorbants à l'état de carbonate, qui insolubilise le fer à l'endroit même où il doit être absorbé.

L'expérience justifie cette interprétation comme on va le voir.

Il s'agit de vérifier maintenant l'influence des acides organiques excrétés par les racines sur l'absorption du fer.

L'un de nous a montré que le maïs laisse diffuser de l'acide malique dans les solutions nutritives. Il est probable que chaque espèce végétale excrète ainsi les acides organiques qui circulent dans sa sève; nous n'avons pas déterminé la nature des acides du pois et de la vesce; nous nous sommes bornés à introduire dans les liqueurs nutritives de petites quantités d'acide tartrique ou citrique parce que ces deux acides sont très répandus aussi chez les végétaux supérieurs; ils possèdent comme l'acide malique la propriété de dissoudre le fer en présence de carbonate de calcium.

Nous avons donc introduit dans les solutions minérales, au moment où la chlorose était bien prononcée, l'une des solutions suivantes :

a)	Tartrate double de potassium et sodium. . . . .	10 gr.
	Acide tartrique. . . . .	1 gr.
	Eau distillée. . . . .	100 gr.
b)	Citrate de sodium. . . . .	10 gr.
	Acide tartrique. . . . .	1 gr.
	Eau distillée. . . . .	100 gr.

en quantité suffisante pour obtenir une concentration de 0,1 p. 1.000 en sel et 0,01 p. 1.000 en acide, par litre de solution nutritive.

Le même traitement a été réalisé sur des vesces en même temps que sur les pois; son résultat ne s'est pas fait attendre.

Les vesces chlorotiques reprennent leur couleur verte au bout de trois jours environ; les conditions atmosphériques particulièrement favorables ont exercé une influence très heureuse sur la rapidité de la guérison.

Les symptômes de la chlorose disparaissent en même temps sur les feuilles et les racines; la solution nutritive redevient incolore et de nouvelles racines se forment sur les anciennes.

Les plantes traitées continuent de se développer comme les témoins jusqu'au moment où la végétation s'arrête pour les raisons que nous avons indiquées.

Les plantes non traitées perdent leurs feuilles et succombent.

L'influence du traitement se traduit de la même manière sur les pois; toutes les plantes traitées reverdissement au bout de trois, quatre jours; la solution se décolore et les racines forment de nouvelles ramifications. Les plantes guéries atteignent des

poids plus élevés que celles dont les solutions n'ont pas reçu d'acide organique.

Quelques-unes parmi les premières portent deux gousses renfermant deux ou trois graines bien développées; le poids sec maximum observé est de 1,962 grammes.

La guérison est aussi rapide chez les plantes dont les solutions sont privées de carbonate de calcium que chez celles qui végétent en présence de ce corps; mais les poids secs de ces dernières sont plus faibles.

Pourvues ou non de carbonate de calcium, les quatre solutions utilisées ont donc provoqué l'étiollement du pois suivant des processus identiques, puisque la maladie se présente partout avec les mêmes symptômes et cède au même traitement.

L'acide tartrique et l'acide citrique se sont montrés également efficaces; ils ont dissous de petites quantités de fer même en présence de carbonate de calcium, et l'ont mis à la disposition de la plante sous un état absorbable.

Nous avons donc empêché la plante de dissoudre le fer en la plaçant dans des solutions qui rendent ses excréptions radiculaires alcalines; mais nous avons corrigé les effets de cette mesure en introduisant dans les solutions les acides libres que la plante ne pouvait plus y déverser.

L'excration d'acides organiques est donc le moyen que les racines emploient pour emprunter aux sols calcaires les éléments terreux qui ne peuvent y exister qu'à l'état insoluble.

Nous pouvons donc prévoir théoriquement l'existence de divers accidents de végétation autres que ceux qui découlent de la pénurie de fer. La chlorose « calcaire » peut être compliquée de disette de manganèse, autre cause d'étiollement dont l'un de nous a précisé le mécanisme (p. 36), de disette de zinc qui se manifeste par la mort rapide des plantules et vraisemblablement de pénurie d'autres éléments qui restent encore à déterminer.

Une chlorose réfractaire au traitement ferrique ou sulfurique peut céder à d'autres interventions visant le manganèse, le zinc ou les éléments provisoirement inconnus.

Nous devons ouvrir maintenant une parenthèse au sujet de la résistance absolue du maïs à la chlorose. Le maïs alcalinise

aussi ses solutions nutritives ; on ne conçoit donc pas qu'il se montre réfractaire aux conditions sévères que nous lui avons imposées.

Nous savons qu'à côté du carbonate de calcium ou de sodium ses racines éliminent des malates ; la présence de ces derniers suffit pour former des sels doubles avec les éléments terreux.

Nous ne voyons pas, en outre, pour quelle raison l'acide malique libre ne suivrait pas le même chemin que les malates, pour se combiner aussitôt à l'oxyde de fer qui est directement en contact avec les poils absorbants. Rien ne s'y oppose, et c'est vraisemblablement dans cette combustion incomplète des acides organiques par les racines que réside le mécanisme ultime de la résistance absolue à la chlorose.

Par analogie, nous sommes conduits à émettre l'hypothèse que les excréptions des plantes calcifuges sont faiblement alcalines.

L'assertion est téméraire si on considère que la sève de l'*Oxalis corniculata*, des *Rumex acetosa* et *acetosella* est fortement acide ; mais il s'agit ici d'acide oxalique dont l'action est neutralisée par le carbonate de calcium, en admettant qu'il se diffuse à travers les membranes des poils absorbants.

Les faits tendent plutôt à prouver que l'acide oxalique est brûlé entièrement par les racines. Les trois espèces que nous avons citées végétent dans les « terres de bruyère » ou dans les sols humides privés de calcaire : elles s'adaptent vraisemblablement à l'absorption de l'humus, qui est un aliment carboné des végétaux supérieurs capables de le dissoudre par leurs excréptions alcalines.

Le mécanisme de l'accoutumance au sol s'expliquerait ainsi très simplement.

Dans les terrains calcaires prospèrent les plantes à excréptions radiculaires acides, tandis que les sols acides ou tourbeux ne peuvent convenir qu'aux végétaux dont les racines laissent diffuser du carbonate de sodium.

Si nous revenons maintenant à la chlorose de la vigne que nous avons surtout visée, quoique par des moyens détournés, nous pouvons assimiler la résistance des cépages français à celle que nous avons constatée chez le maïs ; les cépages américains se rapprochent au contraire des plantes calcifuges, ou

plus exactement peut-être du pois et de la vesce ; nous avons aussi le droit de conclure que la résistance absolue ou « immunité naturelle » et la réceptivité plus ou moins grande à la chlorose « calcaire » relèvent simplement de la réaction des excréptions radiculaires.

### CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Les conclusions qu se dégagent des faits exposés dans ce mémoire, se rattachent à la physiologie générale ; elles sont donc d'ordre théorique ; mais une étude complète de la nutrition des végétaux supérieurs, bien qu'abordée par son côté théorique, aboutit en dernier ressort à des principes destinés à servir de base aux règles de la pratique agricole.

Ce sont ces principes que je résume d'abord.

J'ai montré que le calcaire joue un rôle nuisible sur la végétation, lorsqu'il est assez abondant dans le sol pour troubler la loi des rapports physiologiques (1). Mais il constitue un aliment de la plante, et il exerce une influence heureuse sur son développement en assurant l'insolubilité des oxydes rares, indispensables ou non aux végétaux supérieurs, toujours toxiques lorsque l'eau d'imbibition du sol en dissout des traces sensibles.

Cette dernière propriété comporte cependant une action défavorable lorsqu'elle va jusqu'à priver la plante d'éléments comme le fer, le manganèse, le zinc.

Telles sont les fonctions nombreuses qui sont dévolues au calcaire dans les relations de la plante avec le sol, indépendamment de son action sur la combustion des matières organiques par les microbes.

Son utilité est plutôt liée à sa rareté relative.

Un sol qui renferme 1 p. 100 de calcaire en est suffisamment pourvu ; mais il peut en contenir bien plus sans accuser une diminution de fertilité, au contraire ; tout dépend des proportions relatives des autres éléments qui entrent dans sa composition.

Mais ces proportions commandent les propriétés physiques

1. Deuxième mémoire, p. 678.

du sol que je n'ai pas à envisager ici; il suffit, pour le moment, que le calcaire puisse remplir largement les fonctions utiles que je viens de résumer.

Celles-ci tendent dans tous les cas à placer la plante dans la nécessité d'emprunter un grand nombre de ses éléments minéraux à des composés insolubles.

En présence de calcaire, l'acide phosphorique, le fer, le manganèse, le zinc, la silice ne peuvent être absorbés qu'à la suite d'une action dissolvante due aux excréptions radiculaires.

Ces excréptions sont acides ou alcalines; la réaction basique est la plus fréquente dans les conditions naturelles parce que la plus grande partie de l'azote utilisé se trouve à l'état de nitrate.

Un excès de calcaire augmente la présence de carbonate de calcium dans les excréptions radiculaires et réduit nécessairement leur pouvoir dissolvant; l'absorption d'acide phosphorique, de fer, de manganèse, de zinc devient alors impossible (*lupin, pois, vesce*) ou difficile (mais).

On peut atténuer ces conséquences par les labours: les sols bien divisés sont ceux qui présentent aux racines la plus grande surface de contact non colmatée; par l'emploi des superphosphates qui dans les terrains calcaires commencent par enrober le carbonate de calcium d'une couche de phosphate tribasique, lequel se laisse, sans doute, immobiliser à son tour, comme l'ont montré MM. Müntz et Gaudechon, par le travail d'incrustation des eaux d'infiltration (1).

Il existe enfin un autre correctif efficace des terrains calcaires: ce sont les fumures organiques.

L'humus est un agent d'enrobage aussi efficace que le calcaire et il possède précisément la propriété de se fixer sur ce dernier; mais la combinaison de l'humus et de la chaux est facilement attaquée par les microbes; les acides organiques sont des produits constants de la décomposition de l'humus, et comme ces fermentations sont favorisées par le calcaire même, la solubilisation des oxydes terreux est possible en présence de carbonate de calcium.

Ce sont là des faits dont la pratique a toujours tiré un parti

1. *Annales de la Science agronomique*, 1912, 2<sup>e</sup> semestre, n<sup>o</sup> 3, p. 200.

avantageux bien qu'ils n'aient pas été mis en lumière dans toute leur étendue par la science.

Si l'on considère maintenant les autres éléments indispensables aux végétaux supérieurs, nous savons que l'azote, le potassium, le soufre, le calcium, le magnésium, le chlore se rencontrent à l'état soluble dans tous les sols arables.

Mais la richesse de la solution qu'ils constituent, avec l'eau d'imbibition retenue par la terre, est bien inférieure à celle que j'ai réalisée dans mes solutions nutritives.

Il faut donc admettre que la plante solubilise une fraction importante des substances qu'elle emprunte au sol, puisque la quantité d'eau évaporée pour produire 1 kilogramme de matière végétale est constante pour une espèce donnée.

Nous connaissons les moyens qu'elle met en œuvre pour atteindre ce résultat, et nous savons aussi que le travail de solubilisation accompli par les excréptions des racines est considérablement augmenté par la présence de composés solubles, qui laissent un résidu acide ou alcalin. Des sels tels que le chlorure de sodium peuvent même remplir ce rôle (2<sup>e</sup> mémoire, p. 679).

Pour se conformer à ces principes, les praticiens doivent chercher avant tout à favoriser l'action dissolvante des racines, en leur fournissant les engrains appropriés et en étendant le plus possible leur rayon d'action.

La réaction des excréptions est fixée par la nature des résidus inutilisables pour la plante; mais dans la terre cette réaction a beaucoup moins d'importance que dans les milieux artificiels. À moins que le calcaire fasse défaut; les sels ammoniacaux sont alors contre-indiqués.

Cette condition mise à part, tous les engrains azotés minéraux se valent, à dose égale d'azote.

Mais si on envisage l'autre face du problème, qui comporte un développement vigoureux des organes souterrains, il est nécessaire de faire un choix entre les divers engrains azotés.

Ce sont les nitrates qui influencent le plus favorablement l'allongement et la ramifications des racines, et parmi eux c'est le nitrate de calcium qui se place au premier rang. Les sels ammoniacaux réduisent au contraire le développement des organes souterrains. Le fait a été mis en évidence depuis long-

temps par les remarquables travaux de Lawes et Gilbert, qui ont très judicieusement attribué à cette particularité l'abaissement considérable des récoltes qui reçoivent du sulfate d'ammonium pendant les années de sécheresse persistante.

Il faut pourtant se garder d'employer de fortes doses de nitrates dès la germination ; le développement des racines est en raison inverse de la fertilité du sol. Une faible fumure azotée suffit, lorsque le sol est pauvre en substances nitrifiables ; les terres bien entretenues peuvent s'en passer.

Il est superflu d'ajouter que la profondeur des labours et l'émincier des particules terreuses sont des conditions indispensables à la pénétration des racines.

Le développement vigoureux de ces organes étant assuré dès la germination, il faut leur constituer un milieu nutritif en tenant compte de la loi des rapports physiologiques ; la chose est malaisée (voir 2<sup>e</sup> mémoire, p. 677). Il faut compter avec les réserves minérales et surtout organiques, avec la richesse du sol en calcaire.

La théorie n'a pas orienté jusqu'ici la pratique dans cette voie. Elle s'est crue autorisée à insister sur le pouvoir absorbant du sol ; son insistance est légitime puisque ce pouvoir absorbant permet de constituer des réserves d'éléments fertilisants.

Mais les réserves ne peuvent être mises en œuvre qu'avec le concours d'un certain nombre d'éléments solubles qui constituent ce qu'on est convenu d'appeler un engrais complet.

Ce mélange doit remplir un double but : apporter un complément d'aliments minéraux et assurer, par voie de conséquence, l'absorption des substances insolubles, de façon à mettre à la disposition de la plante, à un moment quelconque de son évolution, tous les éléments indispensables, dans les proportions définies par la loi des rapports physiologiques.

Cette fumure complémentaire est, en somme, une *fumure active* ; si elle fait défaut, le sol le plus riche en réserves insolubles demeure improductif, car la plante ne peut pas attaquer ces réserves.

L'inanité des déductions analytiques devient évidente à la lumière de ces résultats.

Ils condamnent aussi l'usage d'un seul engrais chimique toutes les fois qu'il ne vise pas uniquement la loi des rapports

physiologiques, condition sur laquelle une connaissance approfondie du terrain, basée sur une longue observation, permet seule de se renseigner.

Toute la science du cultivateur consiste à tirer parti de ces observations délicates.

La *fumure active* varie avec l'espèce végétale; c'est la quantité d'eau nécessaire à l'élaboration d'un kilogramme de matière végétale qui fixe son importance; plus elle est élevée, moins la solution nutritive du sol doit être concentrée. Les cultures qui évaporent le plus d'eau s'accommodent le mieux des sols pauvres, et des faibles fumures; sous ce rapport, les légumineuses sont moins exigeantes que les graminées, si l'eau est offerte à discrédition. C'est une notion aussi ancienne que celle de l'assoulement.

*Dans l'ordre théorique*, les résultats obtenus montrent, comme ceux que j'ai déjà exposés dans les mémoires précédents, tout le parti que l'on peut tirer de la méthode que j'ai mise en œuvre. On conçoit, en effet, qu'elle s'est bornée jusqu'ici à montrer la voie et à multiplier les procédés d'investigation qui permettront d'aborder toutes les questions que soulèvent l'agriculture générale et la physiologie.

Nous savons, en effet, que chaque espèce végétale exige une solution nutritive spéciale, par les proportions d'éléments qui la composent plus que par le nombre de corps qui y entrent.

La détermination de ces rapports et la fixation du nombre de corps simples indispensables à une plante sont une besogne délicate, mais non impossible, comme on a pu s'en rendre compte.

Elle deviendra aussi simple dans sa réalisation que la recherche d'une espèce chimique par la voie dichotomique, lorsqu'on aura déterminé les caractères physiologiques qui dénotent la présence ou l'absence d'un élément utile dans la solution.

Le manque de soufre, de fer, de manganèse, se reconnaît à des aspects bien définis de la végétation et se vérifie par des procédés aussi simples que précis.

La privation de zinc se traduit autrement, mais elle se manifeste par des caractères aussi constants et aussi évidents.

Il est vraisemblable que l'absence des autres éléments de la

solution nutritive pourra se reconnaître par des moyens spécifiques. Si je n'ai pas réussi à les découvrir jusqu'à présent, c'est parce que la suppression des éléments qui interviennent à dose massive condamne les organes aériens à une existence éphémère.

Le rôle du soufre, du fer et du manganèse dans la production de la chlorophylle est un fait sur lequel je dois insister.

Il montre que les éléments minéraux des végétaux supérieurs doivent être classés en deux catégories : ceux qui sont nécessaires à la vie végétative, et ceux qui interviennent en même temps, d'une manière directe, dans l'assimilation carbonique.

Le soufre et le fer appartiennent à cette dernière catégorie ; le manganèse doit être rangé dans le premier groupe, bien que sa suppression, dans la liqueur minérale, provoque une chlorose prononcée du végétal ; mais elle n'est pas identique à celle qui résulte de la privation de fer et de soufre et elle est susceptible d'être guérie par une substance organique qui existe dans l'exsudat des feuilles normales ou dans leur macération aqueuse, mais non pas directement par les composés minéraux du manganèse.

Il est vraisemblable, je le répète, que la privation d'un élément minéral quelconque, nécessaire à la vie végétative de la cellule, conduirait au même résultat si l'existence des feuilles n'en devenait trop précaire.

La matière organique chlorogène que j'ai mise en évidence est une substance élaborée par la cellule. Cela montre que les corps chlorophylliens forment avec cette dernière une symbiose très étroite, qui d'ailleurs est évidente, et c'est ainsi qu'il faut interpréter l'opinion suivant laquelle tous les éléments minéraux nécessaires à la plante ont un rôle à jouer dans l'assimilation carbonique.

On sait depuis longtemps que le manque de fer entraîne la disparition de la chlorophylle et on en a d'abord conclu que la chlorophylle renferme du fer. L'analyse a montré que cette déduction est inexacte ; je n'affirmerai donc pas non plus que la chlorophylle renferme du soufre puisque l'analyse ne l'y a pas découvert, ni qu'elle contient dans sa molécule la substance chlorogène élaborée : mais je déduirai de mes observa-

tions que le soufre, le fer, la matière organique élaborée sont des aliments des leucites; j'ajouteraï qu'il n'y a jusqu'ici aucune raison de considérer la chlorophylle comme un facteur déterminant de l'assimilation carbonique à la lumière, puisqu'elle ne se forme pas en l'absence de corps qui n'entrent pas dans sa composition.

Cette dernière particularité suffirait au contraire à la faire considérer comme un produit résultant de l'activité des corps chlorophylliens, si un nombre énorme de travaux ne lui avaient attribué une place que des coïncidences, des rapprochements aidés d'hypothèses, justifient seuls.

Pour appuyer cette conception, qui n'est pas neuve, il faut des faits plus probants, car elle n'a pas été bien accueillie par les physiologistes.

La décomposition du gaz carbonique par les végétaux supérieurs exposés à la lumière se présente donc comme une fonction complexe puisqu'elle dépend de la vie végétative et qu'elle exige en outre des éléments minéraux.

Il en est de même de toutes les grandes fonctions de la cellule vivante.

C'est le moment de rappeler que la production d'acides organiques par voie de désassimilation, ou, ce qui revient au même, par voie de combustion respiratoire limitée, peut être provoquée par la suppression d'un élément quelconque indispensable à la cellule. Si l'on supprime, ou si l'on réduit l'un des corps qui forment la solution de Raulin, en maintenant constante la dose de sucre, on observe la production d'acide citrique par un *citromyces* cultivé sur le milieu ainsi modifié, alors que sur la liqueur normale il n'en produit pas de trace.

L'acide prend naissance au moment où l'élément réduit ou supprimé fait complètement défaut. Pour continuer leur évolution, les parties jeunes du mycélium empruntent le corps qui manque aux vieilles cellules, et c'est alors seulement que l'acide citrique s'accumule dans la liqueur nutritive en présence d'un excès de sucres, aliments carbonés supérieurs à l'acide citrique.

De même, si on place comme l'a fait F. Ehrlich (1), un poids

(1) *Biochemische Zeitschrift*, t. XVIII, fasc. 3, 4 et 5, 1909.

relativement élevé de cellules de levure jeunes et vigoureuses dans une solution sucrée qui renferme un acide aminé comme aliment azoté, la levure emprunte son azote à l'acide aminé et laisse le résidu correspondant, alcool ou acide, parce que ce résidu est un aliment carboné inférieur aux sucres.

Mais quand on cherche à reproduire par les sucs cellulaires ces séries d'actions chimiques complexes, on n'obtient pas de résultats.

Lorsqu'on détruit l'édifice cellulaire, on anéantit en même temps ses fonctions essentielles.

Quelques-unes persistent cependant; ce sont celles qui relèvent d'un travail de digestion.

Mais là encore le déterminisme du phénomène n'est pas simple.

On sait qu'il exige des substances albuminoïdes des éléments minéraux, sous un état chimique convenable, et une réaction déterminée en grandeur et en nature; en un mot, c'est tout le suc cellulaire qui y participe.

Plus on pénètre le mécanisme des actions diastasiques les plus simples, plus le nombre d'éléments qui y concourent apparaît plus grand, et si on parvenait à séparer successivement tous les corps définis du suc cellulaire, on constaterait que les sensibilisatrices, les compléments, les kinases, etc., qui interviennent dans une réaction diastasique sont multiples.

Les actions diastasiques ont été assimilées aux actions catalytiques simples de la chimie générale; il y a entre ces deux ordres de phénomènes des analogies frappantes. Mais la chimie de la cellule est une chimie à déterminants multiples; ses réactions les plus simples exigent le concours de plusieurs facteurs, et, si l'on veut observer toutes les transformations qui relèvent de ses lois, il est nécessaire de recourir de préférence à la dissociation des fonctions en faisant vivre la cellule dans des conditions appropriées.

EXPLICATION DES PLANCHES. — 4<sup>e</sup> MÉMOIRE.

## PLANCHE I.

*Culture du maïs en présence d'un excès de composés calciques solubles.*

De gauche à droite :

Solution  $\text{NO}_3^{\bullet}\text{Ca}$  1 p. 1.000 + 2 p. 1.000 de  $\text{CaCl}_2$ .

Solution  $(\text{NO}_3^{\bullet})^2\text{Ca}$  1 p. 1.000 + 1,5 p. 1.000 de  $\text{CaCl}_2$ .

Solution  $\text{P} \times 1/2 \text{NO}_3^{\bullet}\text{NH}_4$  sans  $\text{CaCl}_2$ . Plante témoin.

Solution  $(\text{NO}_3^{\bullet})^2\text{Ca}$  1 p. 1.000 + 1 p. 1.000  $\text{CaCl}_2$ .

Solution  $(\text{NO}_3^{\bullet})^2\text{Ca}$  1 p. 1.000 + 0,5 p. 1.000  $\text{CaCl}_2$ .

## PLANCHE II.

*Figure montrant la disposition des racines dans les solutions pourvues de 1 p. 1.000 (à gauche) et de 0,5 p. 1.000 de  $\text{CaCl}_2$  (à droite).*

Leur tassement dans les régions supérieures du liquide est dû à une chimiотaxie négative pour le dépôt insoluble riche en composés calciques.

## PLANCHE III.]

*Chlorose expérimentale du maïs, d'après des photographies en couleurs.*

De gauche à droite.

1. Plante en milieu privé de fer.

2. Plante témoin très verte bien qu'elle soit privée de chlore.

3. Plante cultivée dans une solution à 0,5 p. 1.000 de nitrate de potassium dans l'eau distillée pure.

4. Plante en milieu privé de soufre.

## PLANCHE IV.

De gauche à droite.

1 et 2. Deux feuilles chlorotiques d'une plante cultivée en solution incomplète à 0,5 p. 1.000 de  $\text{NO}_3^{\bullet}\text{K}$ , montrant les taches vertes produites par des gouttes de solution d'azotate de fer à 0,4 p. 1.000. Les taches sont à peu près limitées aux cellules qui ont reçu les traces de fer; les cellules détruites ont été lésées par la pointe de la pipette.

2 et 3. Deux feuilles chlorotiques d'une plante privée de manganèse montrant les taches vertes produites par l'eau d'exsudation des plantes normales; les taches récentes sont circulaires; les taches anciennes se sont étendues dans le sens de la circulation de la sève. |

## SUR L'ÉVOLUTION CULTURALE DES DERMATOPHYTES

par M. L. CAZALBOU

Si les remarquables travaux de Grüby ont fait connaître la nature réelle des Teignes, il a fallu l'apparition des méthodes pastorielles pour isoler et différencier les agents de ces affections. À l'heure actuelle, la diagnose de ces champignons a pour base essentielle les caractères objectifs fournis par les cultures; mais, au point de vue botanique, nos connaissances sont encore imparfaites et les travaux de Matruchot et Dassonville sur le rattachement des Dermatophytes aux Gymnoascées, n'ont pas entraîné la conviction générale.

Nous nous proposons de donner ici quelques vues nouvelles sur la question et de faire connaître les premiers résultats obtenus; ces résultats sont, croyons-nous, de nature à ouvrir la voie vers la solution du problème posé par la systématique des Teignes.

### CARACTÈRES GÉNÉRAUX DES CULTURES.

Sur les milieux d'épreuve formulés par Sabouraud, les parasites dont nous nous occupons se présentent généralement sous l'aspect d'un tapis de duvet blanc. Cependant la production de ce duvet offre les modalités suivantes :

1° Certaines espèces acquièrent immédiatement tout leur développement.

Exemple : *Trichophyton equinum*, — *Microsporon tomentosum*, — *Achorion Quinckeanum*.

2° D'autres Dermatophytes montrent tout d'abord un premier duvet assez court auquel se substitue une forme plus longue, désignée par les dermatologistes sous le nom de culture secondaire ou pléomorphe.

Exemple : *Tr. crateriforme*, — *M. Audouini*.

3° Un certain nombre d'espèces, primitivement plâtreuses

ou granuleuses, se recouvrent ensuite de la culture duveteuse définitive.

Exemple : les *Tr. gypseum*.

4° Chez quelques parasites enfin, la culture est tout d'abord glabre; le duvet final peut survenir tout de suite après, comme chez *Tr. violaceum*, — *A. Schönleinii*, ou être précédé de l'apparition d'un duvet plus court et plus rare, comme chez *M. equinum*.

De ces premières constatations, il semble ressortir que, si les espèces de la première série acquièrent, dès leur naissance, tout le développement duveteux dont elles sont susceptibles sur nos milieux, les autres, dont le début est d'apparence variable, s'y acheminent et s'y achèvent très généralement, dans un délai plus ou moins long.

Et, bien que toutes les espèces dermatophytiques connues n'aient pas encore produit la forme dite pléomorphe, ce qui pourrait être mis sur le compte du milieu utilisé, il n'en apparaît pas moins que cette forme duveteuse se présente comme l'aboutissant normal de nos cultures.

Cependant les dermatologistes lui assignent un tout autre caractère et ils l'envisagent comme une régression du végétal. Cette hypothèse s'appuie sur deux ordres de faits. Le premier et le plus important est la non-réversibilité de la forme secondaire à la culture de naissance. On peut trouver singulier qu'un végétal dégénéré ne puisse plus offrir son aspect de jeunesse, quel que soit le nombre de milieux neufs qu'on lui présente. Par contre, on doit admettre que la cause du phénomène n'est pas imputable au milieu, mais bien qu'elle gît dans le parasite lui-même. Cela n'implique pas fatallement une régression, car l'hypothèse suivante, par exemple, expliquerait l'apparition pléomorphe : la formation, dans la première période végétative, d'organes incapables de reproduire le développement mycosique antérieur à ces organes.

Le deuxième fait invoqué par les dermatologistes et moins constant que le premier, est la tendance de la forme secondaire à se dégarnir de plus en plus des organes primitifs de différenciation. Nous montrerons ici qu'on peut faire de grandes réserves sur la signification de la plupart de ces organes, que

la forme pléomorphe est loin d'être l'indice d'un mouvement dégénératif et que, si les dermatophytes s'arrêtent à cette période de leur végétation, c'est que leurs cultures ne sont pas placées dans des conditions convenables d'espace et de temps.

#### SUR LES ORGANES DIFFÉRENCIÉS DES DERMATOPHYTES.

*Spores.* — Les spores, associées en grappes simples ou composées, ont été le premier organe signalé. Elles existent dans toute la série dermatophytique et elles se prolongent dans la forme culturale secondaire.

Tout d'abord, Bouchard avait cru que les *Trichophyton* présentent leur vie végétative dans l'épiderme, sous l'aspect de filaments rayonnés et qu'ils se reproduisent dans le cheveu au moyen des éléments arrondis, agminés en chapelets, qui constituent d'ailleurs la caractéristique du genre. C'est Duclaux (1886) et Verujsky (1887) qui aperçoivent, les premiers, les hyphes garnies de spores, dans les cultures en milieu artificiel. Depuis cette époque, l'interprétation de la valeur de ces organes n'a pas subi de modifications dans le langage dermatologique; et les expressions de conidies ou de chlamydospores, survenues plus tard, ont laissé la question entière.

En 1899, Matruchot et Dassonville, étudiant le développement du *Tr. equinum*, attribuent à l'hyphe sporifère un degré très marqué de différenciation et donnent aux éléments sporulaires la valeur d'une forme reproductrice normale. Ces auteurs font même un rapprochement étroit entre ces organes et les formes secondaires de reproduction chez les champignons du genre *Ctenomyces*, à la suite duquel la filiation des parasites des Teignes aux Gymnoascées leur paraît devoir s'imposer.

Sibouraud (1910), à propos de l'étude mycologique du *Tr. crateriforme*, observe que « si les spores externes semblent bien jouer dans ce mode de fructification inférieure un rôle de graine, néanmoins l'appareil sporifère manque de régularité. Quand on examine, après ces préparations, d'autres montrant le même organe du *Botrytis Bassiana*, par exemple, les appareils sporifères de celui-ci apparaissent beaucoup mieux différenciés et plus constants en leur forme que ceux du Tri-

chophyton qu'on leur compare ». Il semble qu'un léger doute subsiste dans l'esprit de l'auteur sur la nature réelle de ces éléments.

Nous ferons, à notre tour, les remarques suivantes.

D'après les dessins qui en ont été publiés et d'après nos observations, les spores des grappes simples ne sont pas insérées latéralement sur l'hyphe, comme on l'écrit d'habitude; ces éléments sont disposés tout autour du mycélium, sur une ligne spirale plus ou moins régulière, à la façon des feuilles d'un grand nombre de végétaux supérieurs. — Les spores, de longueur variable, ont généralement une largeur égale à l'épaisseur de l'hyphe dont elles dérivent. — Chez certaines espèces, comme *Tr. effractum*, *Tr. umbilicatum*, *Tr. plicarile*, *M. Audouini*, *M. tardum*, *M. equinum*, *M. simplex* (1), les spores deviennent assez souvent filamenteuses et donnent plutôt à l'hyphe l'apparence d'une branche mycélienne qui commencerait à se ramifier.

Bien que, sur milieux gélo-és de même qu'en goutte suspendue, ces organes se reproduisent invariablement, nous ne pouvons nous empêcher de signaler le fait suivant. Les cultures microsporiques et trichophytiques, observées dans les conditions dont il est parlé plus loin, ne nous ont jamais donné d'organes analogues; si, au contraire, nous plaçons dans ces mêmes conditions des spores d'*Aspergillus* évolué spontanément dans un tube de gélose, nous constatons, après plusieurs semaines de végétation mycélienne, la formation, à l'extrémité des filaments, des chapelets de spores caractéristiques. Nous estimons donc que la question de la spore, chez les Dermatophytes, appelle des recherches complémentaires.

*Oryanes pectinés*. — Présentes chez les Microsporon et quelques Achorion, les hyphes pectinées établiraient un rapprochement très net avec un groupe de champignons supérieurs des plus dégradés parmi les Périssopriacées. On les observe, d'après Matruchot et Dassonville, normalement chez les Ctenomyces, où « elles se présentent, soit simples, soit avec denticules d'un seul côté, soit ramifiées comme si quelques-uns des den-

(1) Nous avons fait connaître cette espèce à la Société centrale de Médecine vétérinaire dans la séance du 5 juin 1913.

ticules s'étaient allongés végétativement»; en outre, chez les Ctenomyces, elles ne sont jamais sporifères. Or, nous avons constaté dans les cultures de l'*Achorion Serisei*, observées comme il sera dit plus loin, que ces denticulations dessinent d'abord des hyphes penchées remarquables, mais qu'elles s'allongent plus tard en simples hyphes et, qu'en conséquence, il est difficile de leur reconnaître une valeur spéciale quelconque.

**Fuseaux.** — Les fuseaux existent avec une abondance variable dans les diverses espèces de cultures dermatophytiques. Vus d'abord par Neebe et Furthmann (1891), ils ont été retrouvés par Sabouraud (1894) et par Fox et Blaxall (1896).

A leur sujet, Matruchot et Dassonville écrivent en 1899 : « Ces organes énigmatiques, considérés par les dermatologues comme ayant une valeur morphologique supérieure à celle des conidies, sont pour nous des chlamydospores de même nature et de même origine que les chlamydospores latérales dites conidies. On trouve, en effet, tous les intermédiaires entre les conidies et les fuseaux ». En 1910, Sabouraud, après avoir dit que, chez les *Microsporon* notamment, les fuseaux présentent un haut degré de signification, se demande si Matruchot et Dassonville ont eu l'occasion d'observer des *Microsporon* animaux, qui présentent des fuseaux en quantité considérable et dont plusieurs espèces étaient connues au moment où ces auteurs écrivaient. Depuis, l'*A. gypseum* et l'*A. Serisei* ont été décrits et, chez ces espèces tout au moins, il paraît difficile, conformément à l'opinion de Sabouraud, de ne pas accorder au fuseau un caractère certain de différenciation.

Quelle est la fonction de cet organe? A notre connaissance, Bodin seul a donné quelques renseignements à ce sujet. Dans la description de son *A. gypseum*, Bodin dit expressément : « ... pour les conidies pluriseptées il peut y avoir plusieurs boyaux (mycéliens), chacune des loges de ces conidies étant capable de germer simultanément ». A l'appui de cette assertion, l'auteur figure trois fuseaux de chacun desquels émergent une ou deux hyphes de nouvelle formation. Chose curieuse, dans son dernier ouvrage, Sabouraud ne mentionne nulle part cette particularité intéressante. Nous verrons plus loin que les

faits signalés par Bodin ont une importance qu'on ne peut plus négliger.

*Spirales et pelotons mycéliens.* — Nous ne dirons actuellement que peu de chose des autres organes signalés dans les cultures, tels que les spirales ou vrilles, qui ne paraissent être que des hyphes sous une forme spéciale, tels aussi que les organes nodulaires et les pelotons mycéliens. La vraie signification de ces éléments ne pourra sans doute être établie que lorsque nous connaîtrons le cycle évolutif complet des végétaux producteurs de Teignes.

Les observations qui précèdent nous conduisent à penser que, hormis les fuseaux, nous ne trouvons nulle part d'organes dont la signification soit nettement établie. Ce te conclusion énoncée, il devient évident que la technique mycologique actuelle est insuffisante pour obtenir des renseignements botaniques valables.

Rappelons donc en quoi consiste cette technique et cherchons à formuler ses desiderata.

#### TECHNIQUE ACTUELLE ET TECHNIQUE NÉCESSAIRE.

La méthode qui consiste à examiner une culture dermatophytique par l'inspection directe ne peut donner d'indications que sur des fragments du parasite, et l'examen est d'autant plus net que la parcelle prélevée est plus petite. Ceci indique qu'il est très malaisé de constater les rapports des diverses parties.

La méthode de la goutte suspendue en cellule est, sans conteste, de beaucoup préférable, mais elle réclame un ensemble d'opérations qui sont assez délicates et assez minutieuses pour arriver à rebuter les observateurs les plus patients. De plus, la manière dont la cellule est confectionnée oblige à suivre le développement culturel par le dessous, condition défectiveuse pour cet examen. Enfin, quand la végétation est estimée suffisamment avancée (de quelques jours à trois semaines), les dernières opérations (désiccation à l'étuve, action des réactifs et des lavages), aplatissent sur la lame les diverses parties du végétal obtenu.

Si l'on ajoute à ces raisons la valeur toute relative que nous attribuons aux organes ainsi observés, nous aurons suffisam-

ment montré le besoin qui se fait sentir d'une technique différente.

Il nous a paru que le développement végétatif serait plus normal en renversant le système cellulaire de la goutte et en donnant au parasite tout le temps nécessaire à son évolution. La réalisation du premier point devait permettre l'examen par le dessus. Quant à la question de temps, nous savons qu'un assez grand nombre de champignons, parasites des végétaux et actuellement bien connus, réclament, dans la nature, des mois entiers pour parcourir leur cycle intégral. Il était donc possible qu'en arrêtant une culture en goutte suspendue au bout de quelques jours ou de quelques semaines, l'opération fût prématurée.

Peut-on laisser en cellule une culture de Teigne pendant un temps plus considérable que celui qui lui est habituellement réservé? On peut répondre positivement à cette question, si l'on remarque que les Dermatophytes, étant dépourvus de chlorophylle, empruntent tous leurs éléments, le carbone y compris, au milieu mis à leur disposition. Quant au faible volume d'air qui leur est dispensé, il doit pouvoir suffire pendant un temps assez long, ces parasites végétant abondamment au sein du bouillon nutritif.

C'est à la suite de ces considérations que nous avons été conduit à employer la méthode de la cellule directe. Sur une lame à concavité centrale, une goutte de bouillon glucosé Sabouraud est déposée et une petite parcelle de la culture à étudier, portée au centre de la goutte. On recouvre d'une lamelle de dimensions plus grandes que celles de la concavité et on lute à la paraffine. Disons tout de suite que ce procédé, d'ailleurs déjà connu, qui nous a donné nos premiers résultats, doit être amélioré, notamment par l'augmentation de la hauteur de la cellule et par la possibilité, sans destruction du système, de redonner au parasite, s'il en est besoin, de nouveaux éléments nutritifs quand la première goutte a été utilisée en entier.

Pour se mettre à peu près sûrement à l'abri de la contamination qui se produirait fatatalement en opérant à découvert, nous avons confectionné une boîte à parois de verre dont les faces supérieure et inférieure ont les dimensions des plaques photographiques  $13 \times 18$  et sont séparées par une hauteur de

5 centimètres environ. Des quatre faces latérales ainsi déterminées, l'antérieure et celle de droite sont mobiles dans leur plan et, comme elles peuvent ainsi glisser aisément, la disposition permet de flamber l'intérieur du système et se prête aux diverses manipulations requises. Les opérations sont ainsi rapides et faciles.

#### PREMIERS RÉSULTATS OBTENUS

##### a) *Achorion Serisei*.

Nous avons fait connaître récemment (1) un Achorion relevé à Madagascar, sur le cheval, par M. le vétérinaire Sérisé. Ce parasite, qui présente des ressemblances avec l'*A. gypseum* de Bodin, offre, comme ce dernier et comme les *Microsporon* animaux, des fuseaux très nombreux dont nous avons pu suivre le développement.

Cultivé sur les milieux d'épreuve gélosés, cet Achorion naît sous forme d'une tache blanchâtre qui s'agrandit assez vite et dont le centre prend rapidement une teinte café au lait; il existe une marge périphérique étroite qui conserve la couleur du début. Déjà, par l'examen direct, on peut se rendre compte que le pourtour est composé d'hyphes de diamètre à peu près régulier, garnies de fuseaux à diverses phases de leur développement. Au fur et à mesure que ces fuseaux augmentent de dimensions, ils prennent la teinte de la zone culturale centrale; celle-ci doit en effet sa couleur et son aspect plâtreux à la présence de ces organes qui la constituent à peu près en entier.

Quand les fuseaux naissent sur les hyphes, ils donnent à celles-ci l'apparence de ce qui est désigné communément sous le nom d'hyphes sporifères ou de grappes simples. Et le phénomène évolutif est représenté par la figure 1 (en *a, b, c, d, e, f, g*).

Dans les tubes d'isolement placés à 20-25 degrés, on constate d'autre part que le poil ensemencé a déjà donné des fuseaux au bout de trente-six heures. On peut voir que chacun des éléments parasites de ce poil s'allonge en un filament

(1) *Bulletin de la Société de Pathologie exotique*, mai 1913.

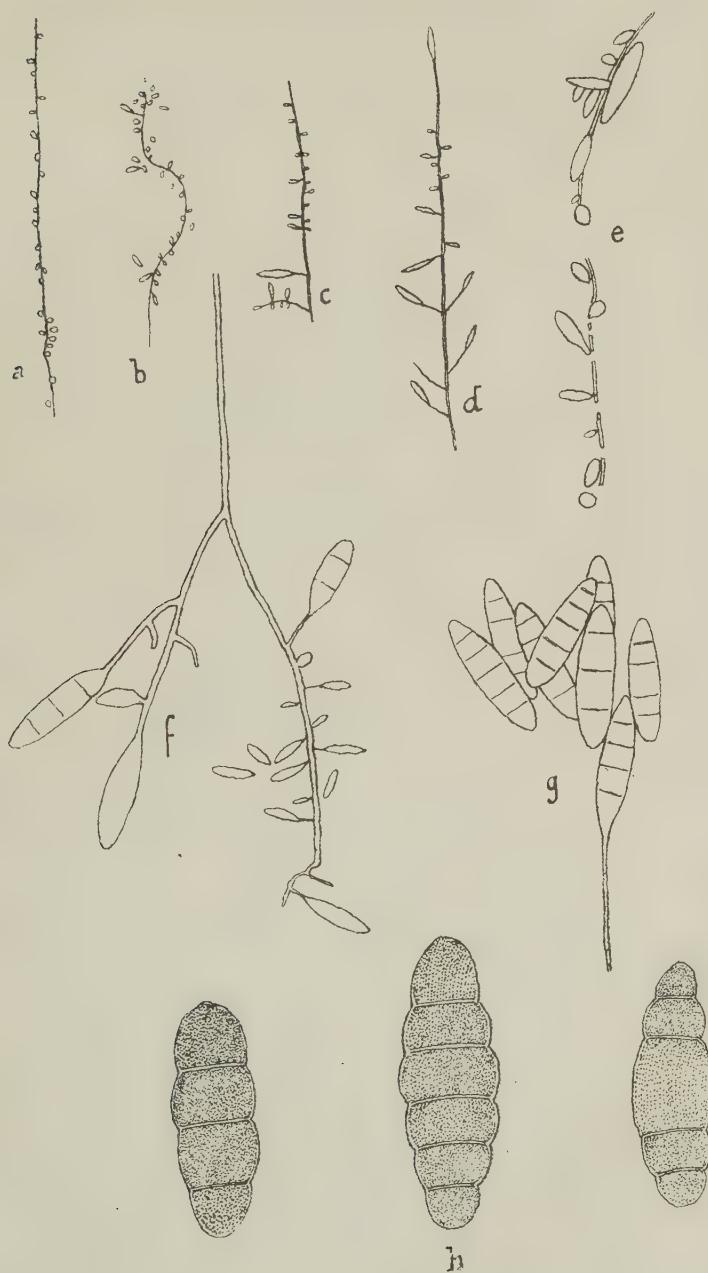


FIG. 1.

mycélien qui aboutit à la formation d'un fuseau terminal. De ce fuseau ne tardent pas à sortir des hyphes fusifères qui se développent à leur tour et qui, par le même processus, finissent par envahir toute la surface du milieu gélosé.

Le fuseau apparaît donc comme un organe de propagation en surface, d'importance capitale.

Prélevé pour l'examen direct dans la zone culturale plâtreuse, le fuseau adulte présente une longueur de 60  $\mu$  et une largeur de 12  $\mu$ , pouvant aller à 15  $\mu$ . Il est divisé en six loges par cinq cloisons; le nombre des septa n'est souvent que de quatre ou de trois; mais, dans ces deux cas, comme les dimensions de l'organe sont généralement inférieures à celles qu'il offre dans le premier, il est possible que le développement de ces fuseaux ne soit pas complet, le nombre infini de ces organes étant certainement une entrave à l'évolution normale de la plupart d'entre eux. Les loges sont formées d'un protoplasma granuleux; les septa qui les limitent sont d'une teinte plus claire qui fait penser autant à un vide de rétraction qu'à la présence d'une cloison vraie. Au niveau de ces cloisons, le fuseau est légèrement étranglé; sa surface porte fréquemment des grains disséminés sans ordre apparent et de la même couleur générale café au lait que l'organe fuselé (fig. 1, *h*).

Quand on place en cellule directe un certain nombre de ces fuseaux (à 20-25 degrés), on en constate d'habitude la multiplication rapide. La figure 2 montre en *i* un fuseau à cinq loges qui, au bout de vingt-quatre heures, a donné non seulement un filament mycélien à chacune de ses extrémités, mais encore neuf hyphes semblables qui naissent sur la surface, en des points ne paraissant avoir aucun rapport avec les loges de l'organe. En *k*, est un fuseau après quatre jours de cellule; il a poussé surtout une hyphe allongée en spirale irrégulière et deux jeunes filaments. En *j*, on voit un fuseau de même époque qui a produit un certain nombre de branches plus ou moins ramifiées. En *l*, enfin sont représentés deux organes fuselés, au cinquième jour, sur les ramifications latérales desquels existent déjà des fuseaux de nouvelle formation. Ces phénomènes se produisent dans la partie inférieure de la goutte de bouillon ensemencée.

En même temps, dans la partie supérieure, se multiplient en

grand nombre les hyphes fusiformes représentées par la figure 1. L'apparition du duvet sur les milieux gélosés est assez



FIG. 2.

inconstante dans l'*Achorion Serisei*. Quand elle se manifeste, on voit naître, le plus souvent au centre, des tiges dressées,

blanches et très délicates, peu denses, qui paraissent s'être glissées au travers de la masse de fuseaux, des parties profondes de la culture. Il est assez fréquent de voir ce duvet se répandre sur toute la surface, en devenant plus serré.

Quand on ensemence ce duvet sur milieu gélosé et en tubes, il ne tarde guère à se propager sur les parois de verre, ainsi que la chose est courante avec les cultures pléomorphiques. Si l'on examine au microscope ce duvet à travers les parois du tube, on le voit formé de branches mycéliennes plus ou moins ramifiées, tout à fait semblables à celles produites, dans la cellule directe, par les fuseaux du plan inférieur. De plus, quand on pratique l'examen direct, entre lame et lamelle, d'un fragment duveteux, il est rare de ne pas constater, au milieu du mycélium, des fuseaux en plus ou moins grand nombre. Et, en repiquant cette forme secondaire tous les dix jours, par exemple, nous avons constaté, au dixième passage, la présence des fuseaux !

Chose encore plus intéressante. Une parcelle de culture duveteuse de l'un quelconque de ces passages en tube de gélose, placée en cellule directe, montre les mêmes détails de développement que lorsqu'on s'adresse aux fuseaux adultes de la culture plâtreuse, à savoir : formation d'hyphes fusiformes en haut, production de mycélium ramifié en bas.

Nous pouvons donc nous expliquer aisément l'apparition du duvet, chez l'*A. Serisei*, en milieu gélosé. En même temps que la végétation se propage en surface par la multiplication des hyphes fusiformes, productrices de la couche plâtreuse, il se forme, au contact du milieu, des fuseaux qui prolifèrent du mycélium. C'est ce mycélium qui arrive à se glisser parmi les éléments de la couche supérieure et qui constitue le duvet dit pléomorphe. On voit également, par ce fait, pourquoi le pléomorphisme, qui se comporte en cellule directe comme dans la culture primaire, ne peut être l'indice d'une régression. Il se constitue, dès le début, sous la couche plâtreuse.

Quand on laisse la cellule directe abandonnée à elle-même, on observe d'autres faits dignes également d'être mentionnés. Il arrive assez vite que le développement des fuseaux supérieurs s'arrête; par contre, les branches mycéliennes des parties profondes continuent à végéter. Fréquemment, ces bran-

ches forment des dessins pectinés aussi nettement accusés que ceux de l'*Achorion Schönleinii*; des hyphes latérales se forment, le plus souvent d'un seul côté des rameaux; elles restent pendant plusieurs semaines en l'état, puis ces denticulations s'allongent, mais elles s'infléchissent dans l'espace limité par le rameau voisin, en restant sensiblement parallèles.

D'une manière générale, le mycélium se répand sur le plancher de la cellule; au microscope il paraît hyalin; sa membrane d'enveloppe est légèrement indiquée et il s'anastomose souvent avec les filaments voisins.

Au bout de plusieurs semaines, on voit apparaître des rameaux aériens dont la paroi, plus dessinée, est brunâtre; cela tient sans doute à ce que ces formations sont observées dans l'air et n'ont aucun contact avec le verre, car elles redeviennent hyalines dès qu'elles atteignent la face inférieure de la lamelle sur laquelle elles courrent. Après un mois de culture on commence d'apercevoir à la périphérie un certain nombre de ces rameaux, porteurs de nouveaux organes, représentés par la figure 3.

Ces organes sont à peu près sphériques et disposés en chaînons sur des rameaux latéraux d'épaisseur moindre. Ils offrent des dispositions variées, dans les conditions, peut-être encore insuffisantes, de nos observations. Ils sont tantôt en petit nombre à l'extrémité du stérigmate; parfois, une courte portion de ce dernier sépare deux éléments voisins; tantôt la chaîne paraît sessile, ce qui peut être dû à sa direction oblique par rapport à la direction du rameau central. Vus à 1.000 D., ces éléments sont sphériques ou légèrement allongés et, dans ce cas, de  $4 \mu \times 3\mu$ ; ils ne sont pas exactement tangents, mais séparés par un disque plus ou moins épais. Ces formations se développent aussi sur le mycélium rampant.

Quelle est la valeur botanique de ces productions? Il semble que la réponse à cette question ne pourra être donnée que lorsque nous connaîtrons en entier le développement de l'*A. Serisei*. A ce moment seulement, il sera légitime d'attribuer à chaque organe son rôle physiologique et, en même temps, de déterminer et de classer l'espèce.

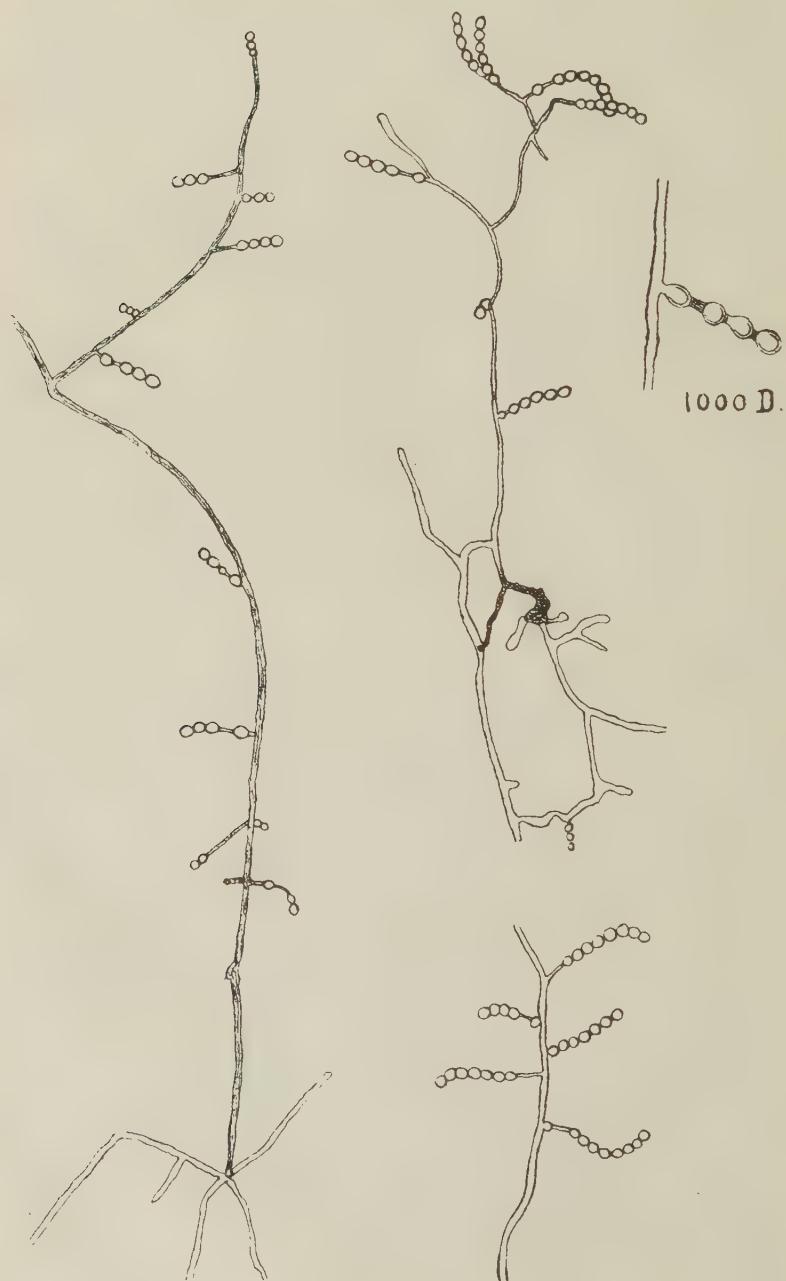


FIG. 3.

b) *Microsporon equinum.*

D'après la description des cultures du *M. equinum* donnée par Bodin et d'après nos observations, le champignon présente, en dehors de ses hyphes normales, c'est-à-dire de diamètre régulier, des filaments pourvus de renflements divers qui lui donnent l'apparence de mycélium en raquette ou bien moniliiforme. Ce parasite est pourvu, sur les mêmes milieux gélosés, d'organes pectinés assez rares, de grappes simples et de fuseaux uni-ou pluriloculaires, souvent échinulés.

Il était intéressant d'observer ce que deviendraient ces divers organes en cellule directe.

Nous savions déjà que le *M. equinum*, ainsi que d'autres champignons du même genre, cultivé en ballons, dans du bouillon maltosé ou glucosé, ne donne que des filaments de diamètre régulier et que, par conséquent, la plus grande partie des organes signalés ci-dessus disparaissent. Cette particularité nous avait même fait soupçonner la présence de la gélose, dans les milieux d'épreuve, d'apporter une certaine gène dans l'évolution normale du parasite et d'être ainsi la cause de la formation, dans les cultures, de ces organes de différenciation qu'on s'attache à décrire en dermatologie.

Quoi qu'il en soit de cette hypothèse, le *M. equinum*, placé en cellule directe, ne montre ni grappes, ni chlamydospores, ni filaments pectinés. De tous les organes signalés, le fuseau seul persiste, et c'est surtout grâce à lui que la végétation se poursuit et s'étend. La figure 4 reproduit la partie centrale de la culture fournie par un fuseau. On peut y voir que ce sont surtout les extrémités de l'organe qui donnent les branches du mycélium primitives, lesquelles ne tardent pas à se multiplier en tous sens.

Comme nous l'avons indiqué à propos de l'*A. Serisei*, le développement mycélien s'opère d'abord sur le fond de la cellule, par la formation intercurrente de nouveaux fuseaux. Au bout de deux mois environ, et alors que le bouillon paraît avoir été utilisé en totalité, apparaissent des rameaux aériens portant des chapelets semblables à ceux de l'*A. Serisei* et garnis d'éléments plus petits et moins nombreux (fig. V, m). Ces nou-

veaux organes se forment aussi sur le mycélium rampant. Il devient, dès lors, très vraisemblable que le duvet pléomor-

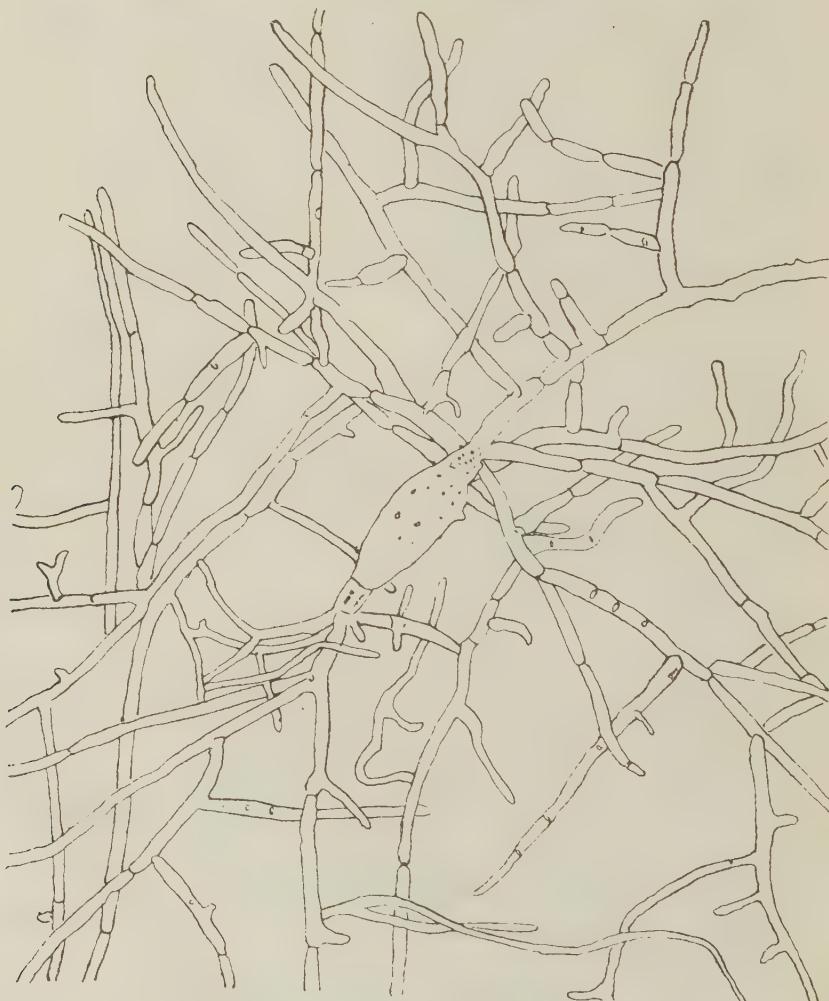


FIG. 4.

phique chez le *M. equinum* est fonction du fuseau et que cette espèce possède une affinité botanique marquée avec l'*A. Serisei*.

c) *Achorion* Sp. (?).

Dans une espèce d'*Achorion* d'origine malgache et dont l'étude n'est point achevée, nous avons obtenu, par la même méthode, des conidiophores insérés à la surface de productions sclérotiques sphériques comme cela se voit, par exemple, chez une Hémobasidée, le *Polyporus annosus*. Nous ne tirerons de cette ressemblance aucun argument prématué sur la position de ce parasite. (fig. 5, n.).

d) *Trichophyton equinum*.

Matruchot et Dassonville, qui ont fait connaître ce champignon, producteur fréquent de Teignes régimentaires, reconnaissent dans ses cultures sur milieux gélosés : des rameaux sporifères naissant à angle droit sur le mycélium, des spores solitaires ovales, comme tronquées à la base, naissant latéralement et irrégulièrement sur les filaments rampants, des enkystements intercalaires donnant naissance à des chlamydospores, des phénomènes d'émigration du protoplasme dans les spores.

Or, si nous plaçons en cellule directe une parcelle de culture trichophytique, nous ne voyons plus se former ces diverses particularités organiques. Mais les hyphes se multiplient, se ramifient, s'anastomosent et finissent par constituer un stroma à mailles plus ou moins serrées; des cordonnets, qui en émergent pour devenir aériens, aboutissent à la formation de sclérotes dont la fig. 5, en r, peut donner une idée.

Tels sont les divers résultats obtenus après quelques mois d'observation en cellule directe.

## CONCLUSIONS.

Nous avons déjà fait remarquer qu'il est impossible de considérer comme complets les renseignements nouveaux apportés. Ces notions sont encore insuffisantes pour assurer la détermination botanique des Dermatophytes.

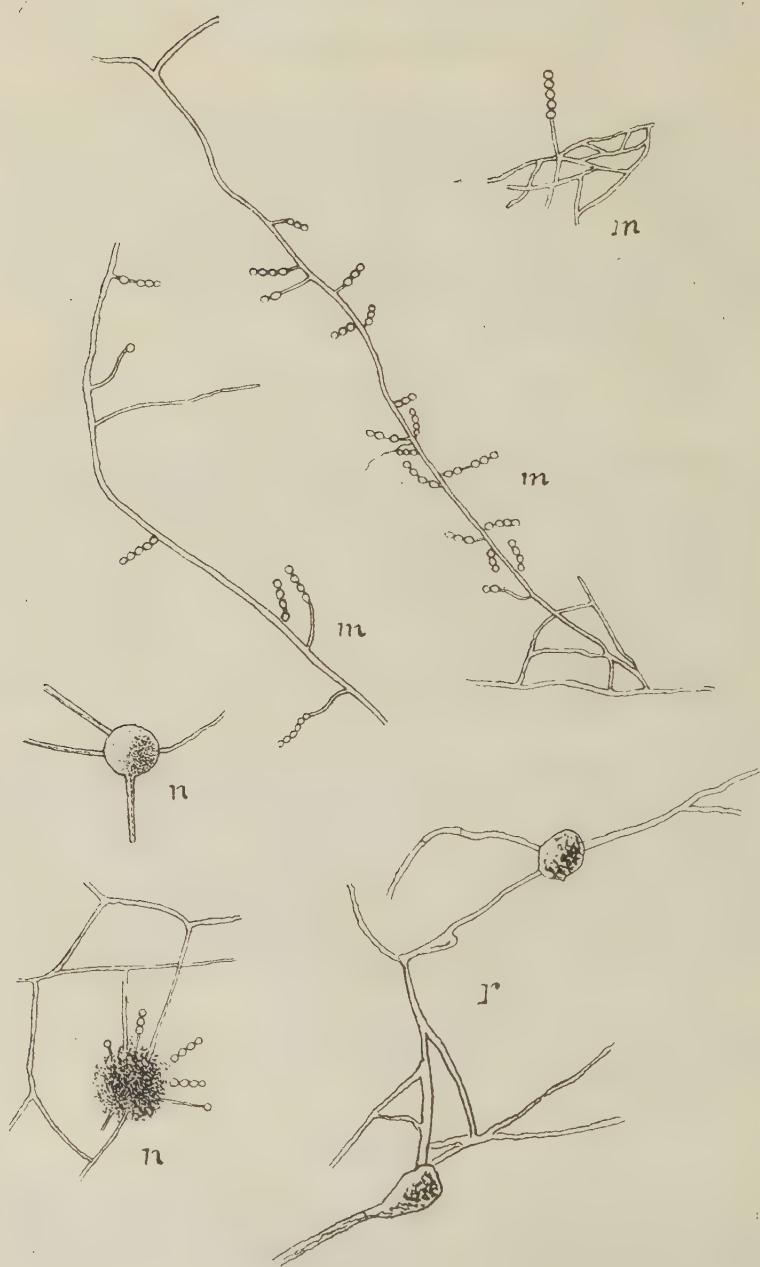


FIG. 5.

Cependant, nous avons cru intéressant de les faire connaître pour orienter les recherches vers une voie nouvelle, et nous formulerois les premières conclusions suivantes :

1° Dans les cultures dermatophytiques en milieux gélosés, les parasites ont une tendance normale à s'achever en duvet;

2° Si, au point de vue dermatologique, l'expression de pléomorphisme, qui ne renferme pas d'indication sur la nature du phénomène, peut sans inconvénient être admise, le mycologue ne doit voir dans le duvet ainsi nommé que l'expression d'un mycélium entravé dans son évolution ;

3° Les cultures réalisées jusqu'à ce jour en milieux d'épreuve gélosés, ne donnent pas d'organes valables pour la classification (le fuseau étant mis à part) ;

4° Le problème de la position systématique des agents parasites des Teignes ne peut être résolu qu'en donnant aux cultures l'espace et le temps nécessaires.

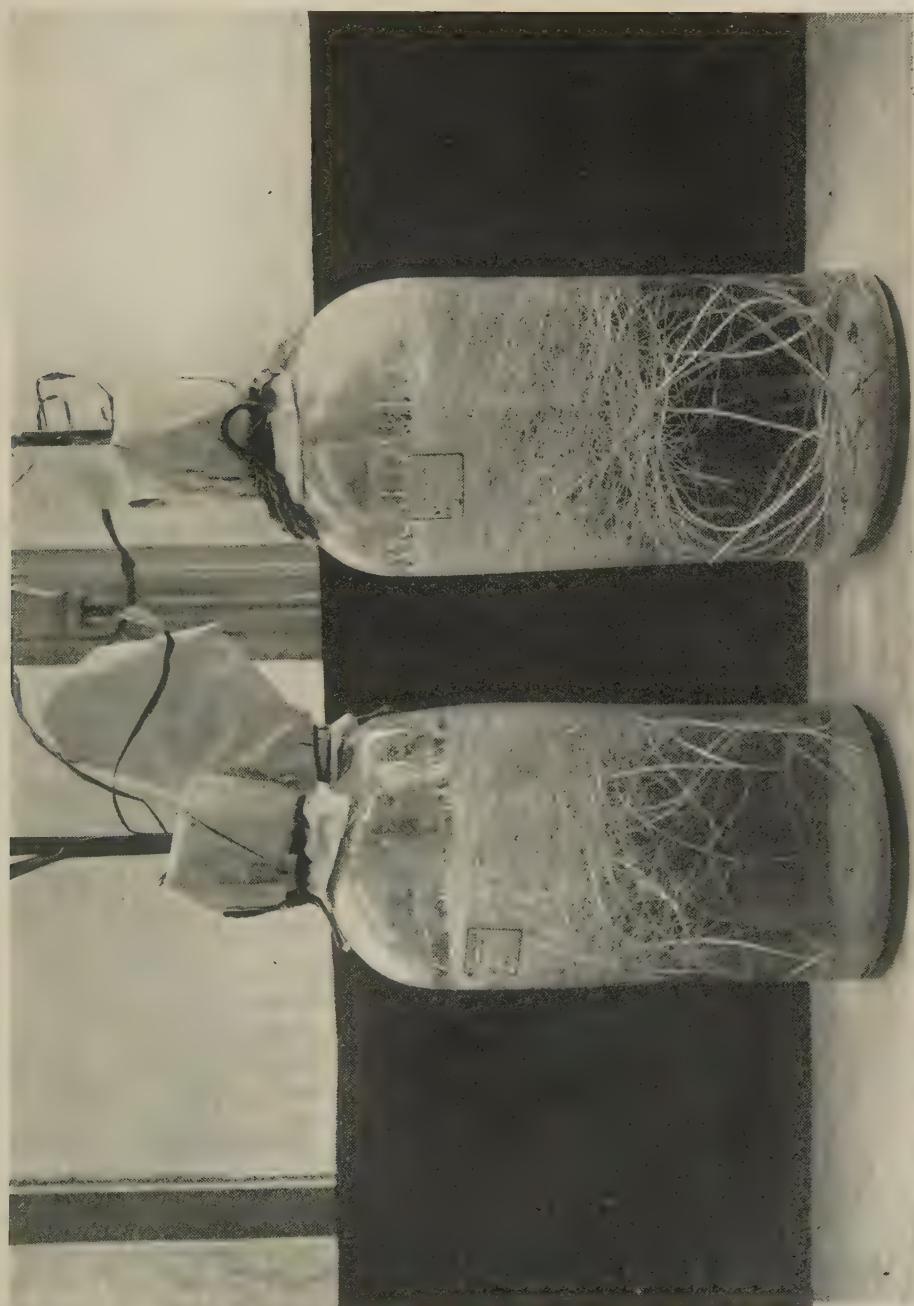
Ce dernier principe admis, il convient de rechercher la meilleure technique pour aboutir. A cette œuvre, nous convions les dermatologues et les mycologues.

*Le Gérant : G. MASSON.*















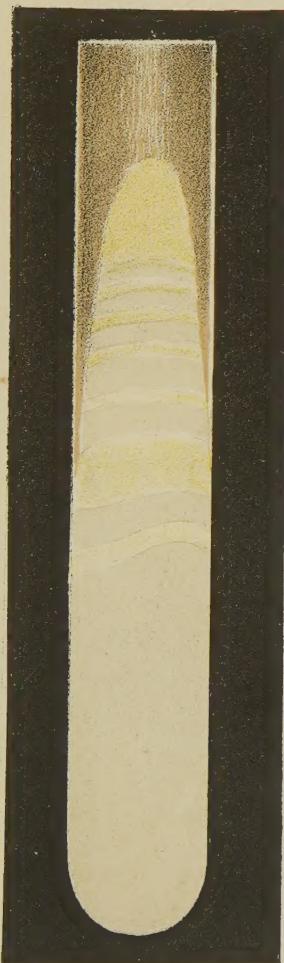
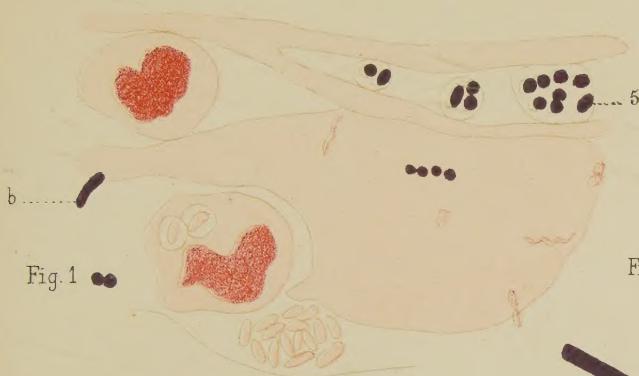


Fig. 3

Fig. 4

